

**Quantitative Bestimmung von Metaboliten des Fungizids
Hexachlorbenzol
in Organen von weiblichen Ratten**

Manfred Wick

1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. Wolfgang Forth

Quantitative Bestimmung von Metaboliten des Fungizids
Hexachlorbenzol
in Organen von weiblichen Ratten

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Manfred Wick
aus
Burghausen
1980

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Gerhard Renner
Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Wolfgang Forth
Dekan: Prof. Dr. med. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 29.1.1981



Vorliegende Arbeit wurde am Pharmakologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. rer. nat. Gerhard Renner durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. G. Renner danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, für seine jederzeit gern gewährte Unterstützung und die vielen wertvollen Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Dr. E. Richter danke ich besonders für die großzügige Unterstützung, sein stetes Interesse und seine Anregungen bei der Durchführung und Diskussion dieser Arbeit.

Herrn Dr. M. Wick, Herrn Dr. H. Prigge und Herrn G. Rössler vom Consortium für elektrochemische Industrie in München verdanke ich die Massenspektren und die GC-MS-Daten, Herrn Dr. H. Parlar von der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, Abt. Ökologische Chemie, die kapillargaschromatographischen Untersuchungen und Herrn W. Warncke vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Statistik und Biomathematik die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Untersuchungen des Stoffwechsels von Hexachlorbenzol (HCB) in weiblichen Ratten	6
Methoden	6
1. Substanzen	6
2. Tierversuche	7
3. Trenn- und Reinigungsverfahren	8
3.1. Simultane Wasserdampfdestillation und Extraktion	8
4. Analytische Methoden	11
4.1. Gaschromatographische Untersuchungen	11
4.2. Massenspektrometrische Analysen von Substrat und Metaboliten nach gaschromatographischer Trennung	17
4.3. Kapillargaschromatographische Untersuchungen	21
Ergebnisse	24
1. Beeinflussung des Körpergewichts der Versuchstiere durch Hexachlorbenzol	24
2. Vergleich der Organgewichte von behandelten Tieren mit denen von Kontrolltieren	24
3. Hämatokrit und Hämoglobinkonzentrationen von behandelten und unbehandelten Ratten	27
4. HCB-Metaboliten, die durch massenspektrometrische, gaschromatographische und kapillargaschromatographische Analysen identifiziert wurden	28
5. Quantitative Bestimmung von HCB und HCB-Metaboliten	29

	Seite
Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse	32
1. Datenverarbeitungsanlage und Programme	32
2. Multifaktorielle Varianzanalyse	32
3. Vergleich der Mittelwerte der Konzentrationen an HCB und dessen Metaboliten in der Leber männlicher und weiblicher Ratten	33
4. Korrelationen der Konzentrationen von HCB und HCB-Metaboliten sowie der HCB-Metaboliten untereinander in der Leber männlicher und weiblicher Ratten	34
III. Diskussion	35
IV. Zusammenfassung	43
V. Literaturverzeichnis	45
Lebenslauf	

Biotransformation von Hexachlorbenzol

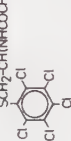
(HCB)



Reduktion mit S-Verbindungen
Dechlorierung

Oxidogenierung
Dechlorierung

Dechlorierung



Pentachlorbenzol



1,2,3,4-Tetrachlor-
benzol



1,2,4,5-Tetrachlor-
benzol

Pentachlorthioanisol



Tetrachlorthioanisol



Tetrachlorthiophenol



2,3,5,6-Tetrachlor-
phenol



2,3,4,6-Tetrachlor-
phenol



1,3,5-Trichlorbenzol



Trichlorphenol



2,3,4,6-

PCC N-Acetyl-S-(pentachlorophenyl) cystein

HMTB Hexakis(methylthio)benzol

BMTB Bis(methylthio)tetrachlorbenzol

4-MTCTP 4-Methylthio tetrachlorthiophenol(1)

1,4-DMTCP 1,4-Dimercapto-tetrachlorbenzol

TCH Tetrachlorhydrochinon



Tetrakis(methylthio)-
dechlorbenzol



4-MTCTP



1,4-DMTCB



TCH



Tetrachlorbenz-
katechin



2,3,5,6-Tetrachlor-
phenol

I. Einleitung

Untersuchungen über den Stoffwechsel des ubiquitär vorkommenden Fungizids HCB wurden erstmals 1959 von Parke und Williams (85) am Kaninchen durchgeführt. Da sie keine Stoffwechselprodukte fanden, hielt man HCB metabolisch für inert. Der Bericht von Cam und Nigogosyan (14) 1963 über schädliche Wirkungen von HCB am Menschen führte zu erneuten intensiven Stoffwechseluntersuchungen. Cam und Nigogosyan berichteten, daß es nach Verwendung von mit HCB gebeiztem Weizen für Nahrungszwecke 1955 - 1959 in der Türkei bei etwa 3000 Personen zu Vergiftungserscheinungen mit den Symptomen einer Porphyria cutanea tarda kam. Dabei zeigte sich an 348 stationär behandelten Patienten eine interessante Verteilung der Porphyrie in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht. Etwa 80% aller Erkrankten waren Kinder bis zum 14. Lebensjahr, 76,4% der Patienten waren männlichen und 23,6% weiblichen Geschlechts.

1973 wurde Pentachlorphenol als erster HCB-Metabolit von Metcalf et al (80) im Tier nachgewiesen. Die Untersuchungen weiterer Arbeitsgruppen führten zur Identifizierung der in Abb. 1 dargestellten Metaboliten, die durch Dechlorierung und durch Einführung von Hydroxy-, Sulfhydryl-, Methoxy-, und Methylthiogruppen gebildet werden.

HCB dient im Pflanzenschutz als fungizides Saatbeizmittel und findet vielseitige Verwendung in der chemischen Industrie. Ferner entsteht es als Nebenprodukt bei zahlreichen Chlorierungsprozessen und ist daher in mehreren Chemikalien als Verunreinigung enthalten (90). Wegen seiner chemischen Beständigkeit und seiner relativ geringen Biotransformationsrate finden sich HCB-Rückstände in der unbelebten Natur (7,9,41,68,105,127), in Pflanzen und Tieren (78,105), in Nahrungsmitteln (7,28,39,40,42,68,105), sowie im menschlichen Gewebe (1,2,8,10,11,12,68,72,83,86,19,93,99,116,117,118,130,135,136).

Zur toxikologischen Beurteilung von HCB ist es erforderlich, Kenntnisse über seine Pharmakokinetik und seinen Stoffwechsel zu gewinnen. Im Tierversuch zeigte sich, daß mit umweltbezogenen Konzentrationen von HCB im Futter Resorptionsraten von mehr als

80% erreicht wurden. Dagegen ergaben sich bei hohen Dosen, in wäßriger Suspension verabreicht, nur noch geringe Resorptionsraten, bis unter 20% (50,62).

Infolge seiner lipophilen Eigenschaften verteilt sich HCB auf alle Organe in Abhängigkeit von deren Fettgehalt. Die höchsten Konzentrationen werden deshalb im Fettgewebe erreicht, die niedrigsten finden sich im Blut und Muskel (22,44,50,56,62,100, 102,103). HCB wird langsam mit den Fäces ausgeschieden; im Urin wurden fast ausschließlich Stoffwechselprodukte nachgewiesen (62, 101); in geringen Mengen finden sich Substrat und Metaboliten auch in der Milch und dem Ei (4,101). Die biologische Halbwertszeit wird für verschiedene Haustiere mit 70-120 Tage angegeben (3,5, 23,29,45,100). Die Metabolisierungsrate ist sehr gering, eine Übersicht über die bisher nachgewiesenen Metaboliten gibt Abb. 1 (6,26,27,57,63,71,76,80,94,95,96,102,111).

Die akute orale Toxizität von HCB bei Säugetieren ist sehr gering, die LD_{50} wird bei Ratten und Meerschweinchen mit ca. 3-10 g/kg Körpergewicht angegeben (9,60). Bei subchronischen und chronischen Toxizitätsuntersuchungen zeigten sich Spezies- und Geschlechtsunterschiede: Meerschweinchen waren empfindlicher als Ratten, weibliche Ratten reagierten empfindlicher auf eine chronische HCB-Belastung als männliche, während sie bei subchronischer Exposition geringere Empfindlichkeit zeigten.

Die durch HCB verursachten Vergiftungssymptome waren bei verschiedenen Tierarten ähnlich und umfaßten Allgemeinveränderungen wie Wachstumsstörungen, Appetitmangel, Gewichtsverlust, daneben gastrointestinale Symptome wie Diarrhoe und Ascites. In fortgeschrittenen Stadien finden sich neurologische Symptome wie Berührungsempfindlichkeit, Sensibilitätsstörungen, Tremor, Ataxie, klonische Konvulsionen, Lähmungen und Koma, daneben werden Veränderungen an Haut und Schleimhäuten Haarausfall, Rötung, Schwellung, Blasenbildung, Epidermolysis und Ulcerationen beobachtet. Die Fruchtbarkeit verschiedener Tierarten war vermindert. (22,20, 31,32,60,67,91,127,130). Im Gegensatz dazu sind bei den bekanntgewordenen Vergiftungsfällen beim Menschen außer einer motorischen Extremitätenschwäche bei Kindern keine neurologischen Symptome aufgetreten; im Vordergrund standen die Hautveränderungen

der Porphyria cutanea tarda wie Blasenbildung, Epidermolyse, Ulcerationen, Hautreizung, Photosensibilität, Hyperpigmentation, Hypertrichosis, schlechte Wundheilung und Atrophie. Daneben wurden Darmkoliken, eine schmerzhafte Leberschwellung, eine schmerzlose Arthritis der Fingerendgelenke sowie die rote Verfärbung des Urins infolge Porphyrinurie und dessen Fluoreszenz im UV-Licht beobachtet (14,58,60,87,88,108).

Pathologisch-anatomische Untersuchungen mit Versuchstieren, denen HCB verabreicht wurde, ergaben vor allem Zeichen einer toxischen Leberschädigung wie die zentrilobuläre Hypertrophie der Leberzellen, Vermehrung des glatten endoplasmatischen Reticulums, Einzelzellnekrosen, Leberzellverfettung, außerdem Proliferation der Gallengänge, interstitielle Fibrose, vermehrte Ceroid-Pigmentablagerungen, Anhäufung von Porphyrinen und Hepatomegalie (14,15,20,21,31,34,44,47,48,49,55,59,67,75,79,81,82,84,91,108,129,131).

Neben einer möglichen unmittelbaren cancerogenen Wirkung des HCB könnte dessen immunsuppressiver Effekt (70) für das vermehrte Auftreten von Hepatomen und malignen Hämangioendotheliomen (13) verantwortlich sein. Auch Nebennierentumoren und Schilddrüsenadenome wurden vermehrt beobachtet (13).

Pathologisch-anatomische Veränderungen wurden auch im Urogenitalsystem (21,47,48,49,59), in den Nebennieren (59,67), in der Lunge (59), in der Schilddrüse (14), an der Haut (60), an Herz und Blutgefäßen (20,31,59), im Blutbild (16,20,21,31,44,59,67,91,107), am lymphatischen System (22,31,49,59,70), am Darm (3) sowie am Skelett (59) beobachtet.

Die durch HCB ausgelöste Porphyrinstoffwechselstörung in der Leber führt zu einer erhöhten Ausscheidung von δ -Aminolävulin-säure, Porphobilinogen und Porphyrinen im Urin (vorwiegend Uro- und Koproporphyrin) sowie zu einer vermehrten Ablagerung von Porphyrinen in Leber, Milz und Niere (15,20,32,35,36,37,51,52,55,65,69,76,79,92,106,112,113,114,121,122,123,124,125,132). Die genaue Ursache der Porphyrinstoffwechselstörung ist noch nicht eindeutig geklärt, diskutiert werden die Induktion der δ -Aminolävulin-säuresynthetase (20,91,112,113,120,121,122), die Hemmung der Uroporphyrinogendecarboxylase (25,105,123) sowie die Erhöhung

der Membranpermeabilität durch HCB (64,113).

Goerz et al. (30) nehmen an, daß sich die HCB-Porphyrurie unabhängig von der beobachteten Induktion mikrosomaler Monooxygenasen durch den kombinierten Effekt einer Hemmung der Uroporphyrinogen-Decarboxylase und dem dadurch bedingten Porphyrinstau in der Leber sowie durch die nachgewiesene Abnahme der Glutathionkonzentration, die zu einem Mehranfall an Schwermetallionen führt, entwickelt.

Bei allen Experimenten entwickelten jeweils die weiblichen Versuchstiere leichter eine Porphyrurie, deren Symptome sich durch Entfernen der Ovarien bzw. durch Androgengaben bessern ließen, während sie sich bei den Männchen durch Kastration bzw. Östrogengaben verschlimmerten (32,36,51,53,112). Die Verabreichung von Geschlechtshormonen allein bewirkte dabei keine Auslösung der Porphyrurie. Neben Störungen im Fettstoffwechsel (74), Mineralstoffwechsel (88), Proteinstoffwechsel der Leber (54,92,126) sowie im Redoxsystem $\text{NAD}/\text{NADH}+\text{H}^+$ (124) induziert HCB folgende Enzyme: δ -Aminolävulinsäuresynthetase (20,92,113,114,121,122,123), Anilinhydroxylase (21,35,76,126), Aminopyrin-N-Demethylase (21,35,54), Leberesterasen (79,126), O-Dealkylase (37), Glucuro-nyl-Transferase (76), p-Nitroanisol-Demethylase (76,126), Biphenyl-2-Hydroxylase (126), Biphenyl-4-Hydroxylase (126), Azoreduktase (16), NADH-Cytochrom-c-Reduktase (35) sowie Cytochrom P 450 und b_5 (16,34,35,54,69,76,92,119,120,124,126,133), während die Erhöhung der Aktivitäten von GOT, GPT, SDH, LDH, GLDH und MDH (35,91,109) als Ausdruck des toxischen Leberparenchymschadens zu werten ist. Die Enzyme δ -Aminolävulinsäure-Dehydrogenase (92), Glucose-6-Phosphatase (16) und Uroporphyrinogen-Decarboxylase (25,106,124) werden durch HCB gehemmt.

Geschlechtsabhängige Unterschiede in der Störung des Porphyrinstoffwechsels waren der Anlaß, die Biotransformation von HCB an männlichen und weiblichen Ratten getrennt zu untersuchen. Dabei sollten neben den durch partielle Dechlorierung entstandenen "neutralen" Metaboliten vor allem phenolische und thiophenolische "saure" Metaboliten quantitativ untersucht werden. Da Koss et al. (62,64) fanden, daß der HCB-Metabolit Pentachlorthiophenol bei gleichzeitiger Gabe von δ -Aminolävulinsäure Störungen des Por-

phyrinstoffwechsels verursacht, war die Bestimmung dieses Stoffwechselproduktes von besonderem Interesse.

In dieser Arbeit werden die Ergebnisse quantitativer Bestimmungen von HCB und dessen Metaboliten in weiblichen Ratten beschrieben und mit den Resultaten von Bayerl (6), der analoge Untersuchungen an männlichen Tieren durchführte, verglichen und diskutiert.

II. UNTERSUCHUNGEN DES STOFFWECHSELS VON HEXACHLORBENZOL (HCB) IN WEIBLICHEN RATTEN

Verzeichnis der Abkürzungen

HCB	Hexachlorbenzol
PCB	Pentachlorbenzol
PCP	Pentachlorphenol
PCAS	Pentachloranisol
PCTP	Pentachlorthiophenol
PCTAS	Pentachlorthioanisol
BMTCB	1,4-Bis-(methoxy)-tetrachlorbenzol
2,3,4,6-TCP	2,3,4,6-Tetrachlorphenol
2,3,4,6-TCAS	2,3,4,6-Tetrachloranisol
2,3,5,6-TCP	2,3,5,6-Tetrachlorphenol
2,3,5,6-TCAS	2,3,5,6-Tetrachloranisol

RT Retentionszeit

RRT _{HCB}	<u>Retentionszeit</u>	<u>Metabolit</u>
	Retentionszeit	HCB

M e t h o d e n :

1. Substanzen

Folgende Verbindungen wurden als Vergleichssubstanzen für die gaschromatographische Identifizierung der HCB-Stoffwechselprodukte verwendet. Sie waren im Handel erhältlich und wurden durch Umkristallisieren oder Destillieren gereinigt: Hexachlorbenzol (HCB) Fp. 230°C, Pentachlorbenzol (PCB) Fp. 85°C, Pentachlorphenol (PCP) Fp. 190°C, Pentachlorthiophenol (PCTP) Fp. 239°C, 2,3,4,6-Tetrachlorphenol (2,3,4,6-TCP) Fp. 70°C, 2,3,5,6-Tetrachlorphenol (2,3,5,6-TCP) Fp. 115°C. Anisole und Thioanisole wurden durch Methylierung der entsprechenden Phenole mit Diazomethan hergestellt und aus Methanol umkristallisiert:

Pentachloranisol (PCAS) Fp. 107°C, 2,3,4,6-Tetrachloranisol (2,3,4,6-TCAS) Fp. 63°C, 2,3,5,6-Tetrachloranisol (2,3,5,6-TCAS) Fp. 90°C.

Pentachlorthioanisol (PCTAS) Fp. 94,5 - 95,5°C wurde nach Renner et al. (97) synthetisiert.

2. Tierversuche

Als Versuchstiere dienten 50 weibliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem mittleren Körpergewicht von 257,8 g. 40 Ratten bekamen je 770 mg HCB pro kg Körpergewicht innerhalb eines Monats in 9 gleichen Einzeldosen, in Erdnußöl gelöst, über eine Schlundsonde verabreicht, während 10 weibliche Kontrolltiere nur Erdnußöl erhielten.

Von den 40 mit HCB behandelten Ratten wurden 30 Tiere 3 Tage, 5 Tiere 24 Tage und weitere 5 Tiere 52 Tage nach der letzten HCB-Gabe getötet. Leber, Nieren, Milz und Herz wurden entnommen, gewogen und mit den Organgewichten der 10 Kontrolltiere verglichen.

3. Trenn- und Reinigungsverfahren

3.1. Simultane Wasserdampfdestillation und Extraktion nach Schultz et al. (109)

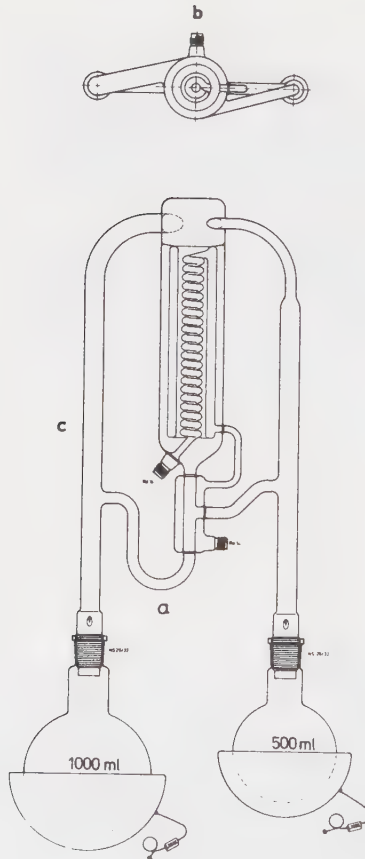


Abb. 2: Simultane Wasserdampf-Destillations- und Extraktions-Apparatur (im folgenden als SDE-Apparatur bezeichnet)

Für die Isolierung von HCB und dessen Metaboliten aus Organen erwies sich eine kombinierte Wasserdampfdestillation und Extraktion als Trenn- und Reinigungsverfahren als besonders geeignet, da viele der bisher bekannten HCB-Metaboliten hochsiedende Substanzen von sehr geringer Wasserlöslichkeit und einem in Verhältnis zu Wasser großen Molekulargewicht sind. Infolge der geringen Wasserlöslichkeit beeinflussen sich die Dampfdrucke des Wassers und der Substanzen nur wenig. Der Siedepunkt des Systems wird erreicht, wenn die Summe der Einzeldampfdrucke dem Atmosphärendruck gleich geworden ist, und da dieser tiefer liegt als der Siedepunkt der leichter flüchtigen Komponente Wasser, können die Substanzen unter 100°C destilliert werden.

Ogbleich die Druckanteile der Substanzen beim Sieden des Systems sehr gering sind und der Dampfraum entsprechend der Regel von Avogadro ($p_1:p_2 = n_1:n_2$) sehr viel mehr Wassermoleküle als die der Substanz enthält, lohnt sich die Wasserdampfdestillation, denn die Menge der Komponenten, die mit einer bestimmten Menge Wasser übergehen, werden umso größer sein (nach $p_1:p_2 = n_1:n_2 = g_1/MG_1:g_2/MG_2$), je größer ihre Molekulargewichte sind. Durch die intensive Mischung der tangential in die Mischkammer eintretenden Dämpfe wird eine wirkungsvolle Extraktion der gesuchten Substanzen durch das Lösungsmittel erreicht.

Die Wiederauffindungsraten entsprechender authentischer Substanzen aus Organhomogenaten unter den im folgenden beschriebenen Destillationsbedingungen betrugen nahezu 100% (98).

Die Organe wurden mit Seesand zerrieben, mit 1 N HCl (pH = 0) versetzt und mit 100 ml n-Hexan als Lösungsmittel 3 Stunden dem SDE-Vorgang unterworfen. Die Extrakte wurden über Na_2SO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Zum gaschromatographischen Nachweis der phenolischen und thiophenolischen Metaboliten wurden diese in den Hexanextrakten durch Reaktion mit Diazomethan in die entsprechenden Anisole bzw. Thioanisole übergeführt. Das überschüssige Diazomethan wurde im Stickstoffstrom entfernt. Die Hexanlösungen wurden durch Ausschütteln mit konzentrierter Schwefelsäure gereinigt und auf Volumina von 10 ml gebracht; Verdünnungen von 1:10 und 1:200 wurden gaschromatographisch analysiert.

Gaschromatographische Untersuchungen mit den nicht methylierten, jeweils auf 10 ml eingeengten Hexanextrakten ergaben geringe Mengen von PCTAS, jedoch kein PCAS. Analysen der mit Diazomethan methylierten und wieder auf das Volumen von 10 ml gebrachten Extrakte zeigten jetzt die Anwesenheit von PCAS und ergaben außerdem jetzt eine mehrfache Vergrößerung der Flächeninhalte der Peaks mit der Retentionszeit des PCTAS. Wegen der nur sehr geringen Konzentration von PCTAS und des Fehlens von PCAS in den nicht methylierten Extrakten wurde auf eine Trennung der "neutralen" von den "sauren" Metaboliten PCTP und PCP verzichtet.

4. Analytische Methoden

4.1. Gaschromatographische Untersuchungen

Die gaschromatographischen Analysen wurden an einem Hewlett-Packard Research Chromatograph, Modell 5750-A, mit Elektroneneinfangdetektor (^{63}Ni) durchgeführt und an einem autolab 6300 digital Integrator ausgewertet.

Säule: 9 ft 3% QF 1 100-120 mesh Gaschrom Q, Temp. 150°C

Träger- und Spülgas: Argon-Methan 90/10

Strömungsgeschwindigkeit: 25 bzw. 60 ml/min.

Detektortemperatur: 300°C

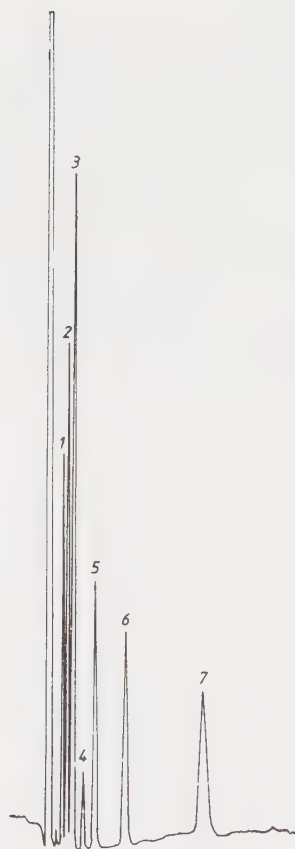


Abb. 3: Gaschromatogramm einer Standardlösung chlorierter Benzole

Peak-Nr.	Substanz	RT (sec)	RRT _{HCB}
1	1,3,5-TCB	41	0,189
2	1,2,4-TCB	48	0,222
3	1,2,3-TCB	55	0,253
4	1,2,4,5-TCB 1,2,3,5-TCB	69	0,318
5	1,2,3,4-TCB	83	0,382
6	PCB	120	0,553
7	HCB	217	1,000

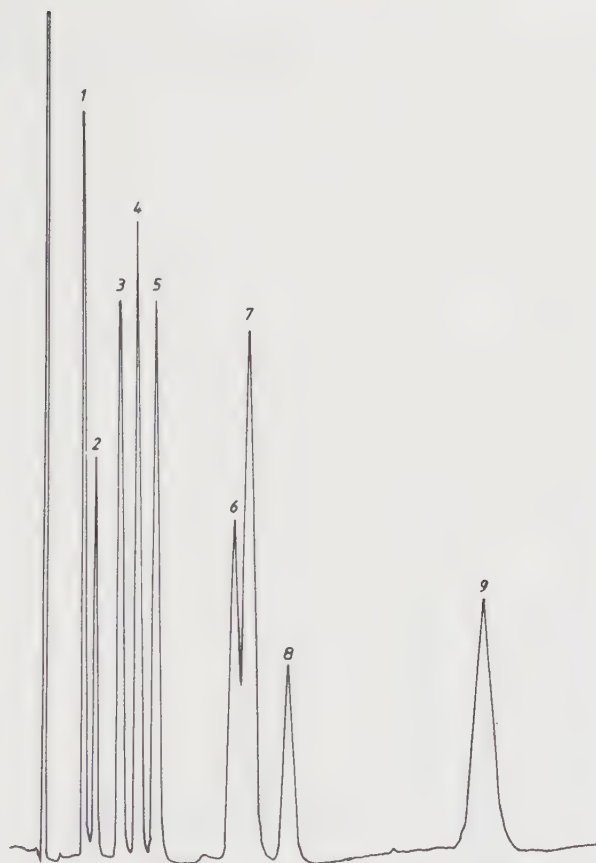


Abb. 4: Gaschromatogramm einer Standardlösung folgender chlorierter Anisole:

Peak-Nr.	Substanz	RT (sec)	RRT _{HCB}
1	2,4,6-TCAS	74	0,341
2	2,3,6-TCAS	88	0,405
3	2,4,5-TCAS	117	0,539
	2,3,5-TCAS	117	0,539
	3,4,5-TCAS	117	0,539
4	2,3,5,6-TCAS	137	0,631
	2,3,4,6-TCAS	137	0,631
5	2,3,4-TCAS	161	0,742
6	2,3,4,5-TCAS	256	1,180
7	PCAS	271	1,249
8	1,4-BMTCB	320	1,475
9	PCTAS	565	2,604



Abb. 5: Gaschromatogramm eines Hexanextrakts der Leber einer weiblichen Ratte (Verdünnung 1:10)



Abb. 6: Gaschromatogramm eines Hexanextrakts der Leber einer weiblichen Ratte (Verdünnung 1:200)

Peak-Nr.	RT	RRT _{HCB}	Authentische Substanzen, deren RT mit
(Abb. 5+6)	(sec)		den gefundenen RT übereinstimmen
1	120	0,553	PCB
2	137	0,631	2,3,4,6- und 2,3,5,6-TCAS
3	217	1,000	HCB
4	271	1,249	PCAS
5	293		nicht identifiziert
6	565	2,604	PCTAS

Außer den in den Chromatogrammen der Abbildungen 5 und 6 enthaltenen Peaks zeigten einige Chromatogramme auch Peaks, die mit den Retentionszeiten von 1,2,4,5- und/oder 1,2,3,5-TCB sowie 2,3,6-TCAS übereinstimmten.

Zur quantitativen Bestimmung der Substanzen in den Organextrakten war die Ermittlung des Linearitätsbereichs des GC-EC-Detektors unerlässlich; Tab. 1 zeigt das Ergebnis dieser Eichung.

Tab. 1: Lineare Meßbereiche für HCB, PCAS, PCB, TCAS, PCTAS unter den angegebenen CG-Bedingungen

Substanz	Konz. (ng/ml)	Linearitätsbereich (pg)
HCB	68	10 - 320
PCAS	72	10 - 320
PCB	46	10 - 150
2,3,5,6-TCAS	12	10 - 70
PCTAS	37	10 - 350

Lineare Gleichung der Eichgeraden: $y = mx + b$

y = integrierte Fläche des Peaks

m = Steigung der Eichgeraden, $\text{tg } \alpha$

x = eingespritzte Menge pg

b = Achsenabschnitt der Eichgeraden

Die Konzentrationen von HCB und dessen Metaboliten in den Organen wurden nach folgender Formel berechnet:

$$c \text{ (ppm)} = \frac{(I-b) \cdot f \cdot V_2}{m \cdot V_1 \cdot g}$$

I = Integral (Fläche des Peaks)

b = Achsenabschnitt der Eichgeraden

f = Korrekturfaktor bei Änderung der GC-Empfindlichkeit

V_2 = Verdünnungsvolumen in Liter

m = Steigung der Eichgeraden, $\text{tg } \alpha$

V_1 = Einspritzvolumen in Mikroliter

g = Organgewicht in Gramm

4.2. Massenspektrometrische Analysen von Substrat und Metaboliten nach gaschromatographischer Trennung

Die GC-MS-Einheit bestand aus einem Gaschromatograph Varian 1700, Massenspektrometer Varian CH 5, Rechenanlage Varian SS 100.

Meßbedingungen: Elektronenquellentemperatur 220°C, Elektronenenergie 70 eV, Emissionsstrom 100 mA

Säule: GEXE 60 10%, Länge 2 m, Temperaturgradient 220 - 240°C/6 min.

Gasdurchfluß: Helium 20 ml/min

Nachdem durch gaschromatographische Analysen festgestellt worden war, daß die Organe von männlichen (6) und weiblichen Tieren die gleichen Metaboliten enthalten, wurden alle Organextrakte vereinigt und auf ein kleines Volumen eingeeengt, wodurch die für die massenspektrometrische Analyse notwendigen höheren Metabolitenkonzentrationen erzielt wurden.

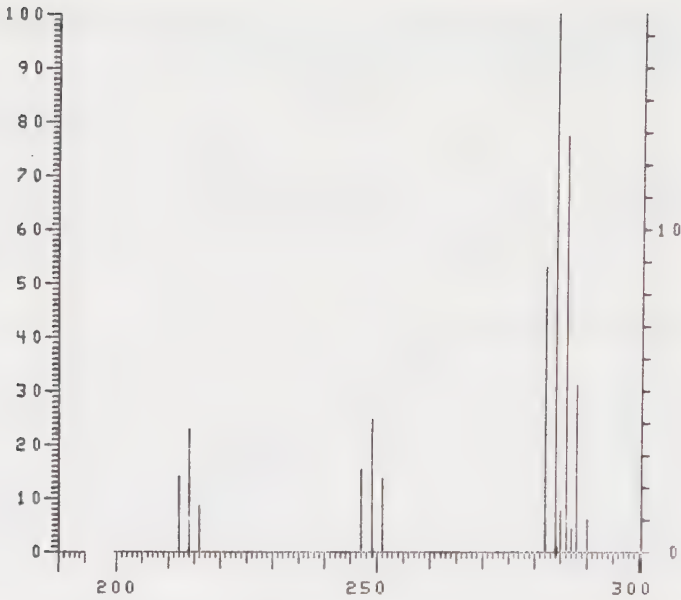


Abb.7: Massenspektrum von authentischem Hexachlorbenzol (HCB, MG=284)

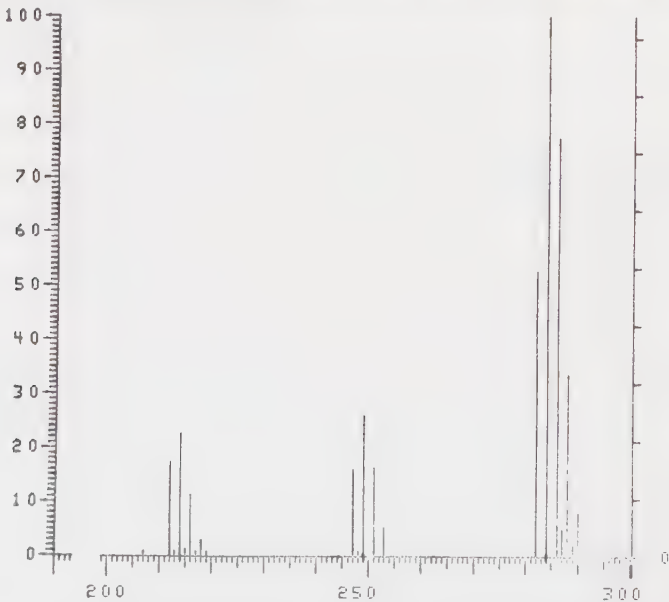


Abb.8: Massenspektrum einer Substanz im Hexanextrakt aus Rattenorganen, deren Retentionszeit mit der des authentischen HCB übereinstimmt ($M^+=284$)

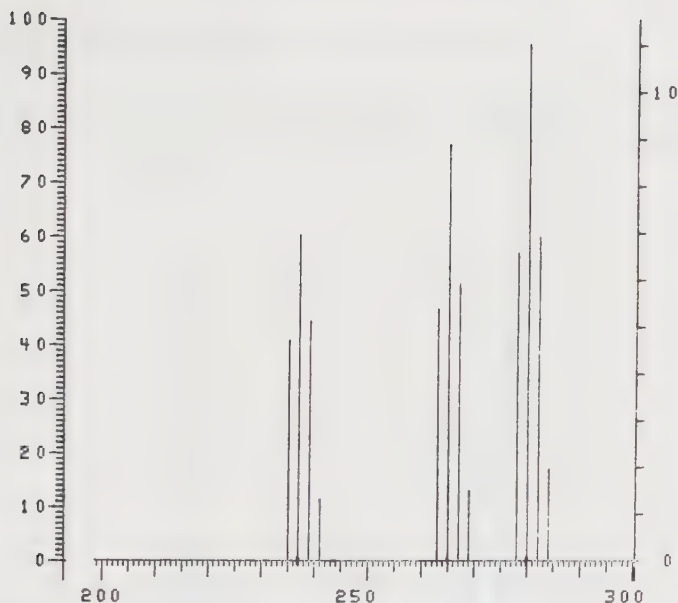


Abb.9: Massenspektrum von authentischem Pentachloranisol (PCAS, MG = 280)

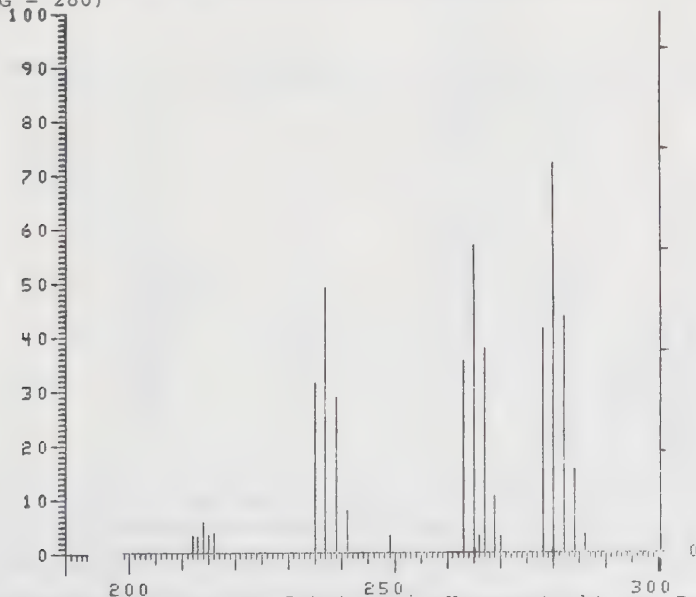


Abb.10: Massenspektrum einer Substanz im Hexanextrakt aus Rattenorganen, deren Retentionszeit mit der des authentischen PCAS übereinstimmt ($M^+ = 280$)

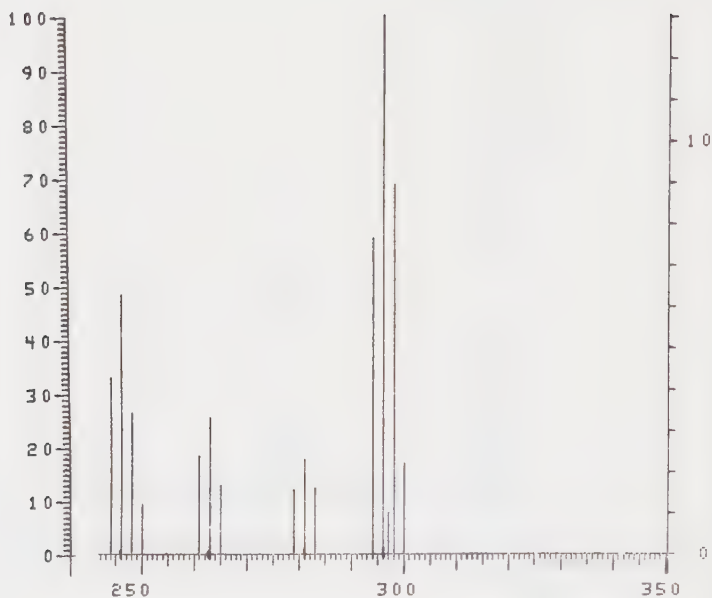


Abb.11: Massenspektrum von authentischem Pentachlorthioanisol (PCTAS, $M^+=296$)

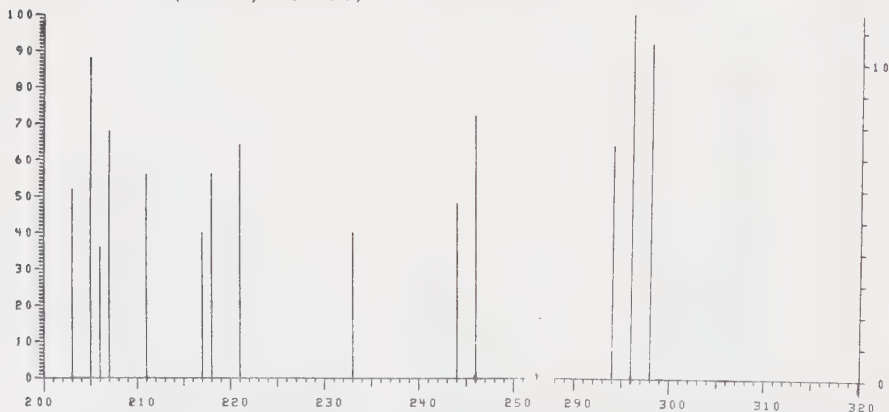


Abb.12: Massenspektrum einer Substanz im Hexanextrakt aus Rattenorganen, deren Retentionszeit mit der des authentischen PCTAS übereinstimmt ($M^+=296$)

4.3. Kapillargaschromatographische Untersuchungen

Die Untersuchungen wurden an einem Gerät Fraktovap der Fa. Carlo Erba an einer OV 101-Säule, Länge 30 m bei 80°C durchgeführt.

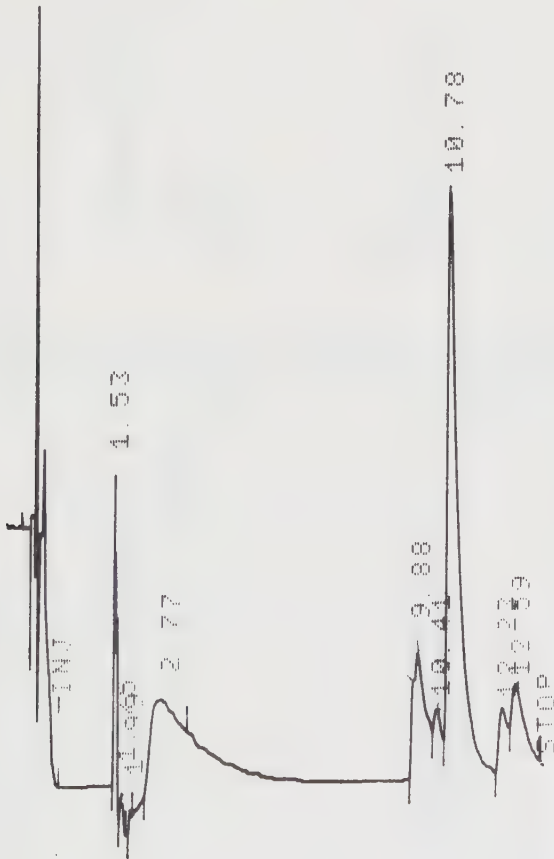
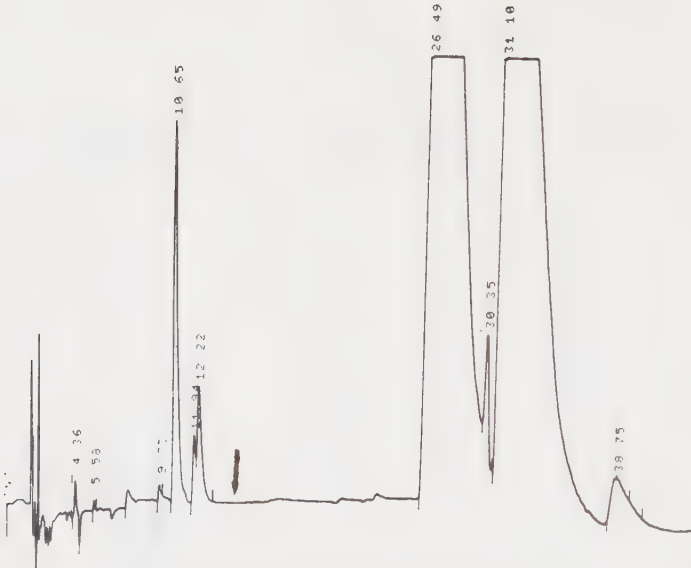


Abb.13: Kapillargaschromatogramm einer Standardlösung mit den Substanzen PCB (RT:10,78); 2,3,5-TCAS (RT:9,88); 2,4,5-TCAS (RT:9,50); 3,4,5-TCAS (RT:10,41); 2,3,4,6-TCAS (RT:12,59) und 2,3,5,6-TCAS (RT:12,23)



-Abb.14: Kapillargaschromatogramm des Hexankonzentrats aus allen Organextrakten (Leber, Herz, Milz und Nieren) von weiblichen und männlichen (6) Ratten

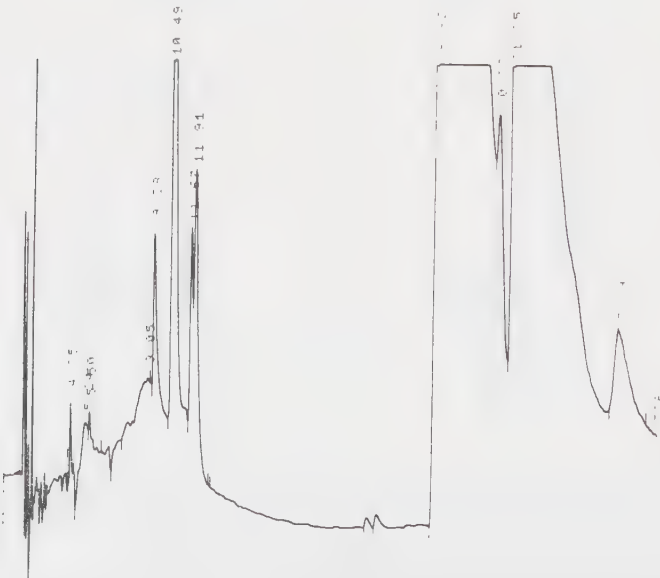


Abb.15: Kapillargaschromatogramm des Konzentrats aus Organextrakten (Abb.14), dem die Standardlösung (Abb.13) zugemischt wurde

Tab. 2: Retentionszeiten, die aus den Kapillargaschromatogrammen der Standardlösung und des Organextrakts ermittelt wurden

RT (min) Standard	RT (min) Extrakt	Substanz
9,88	9,73	2,3,5-TCA
10,41	-	3,4,5-TCA
10,78	10,65	PCB
12,23	11,94	2,3,5,6-TCA
12,39	12,24	2,3,4,6-TCA

E r g e b n i s s e

1. Beeinflussung des Körpergewichts der Versuchstiere durch HCB

Sowohl die mit HCB behandelten weiblichen Ratten wie die Kontrolltiere zeigten eine geringfügige, statistisch nicht signifikant unterschiedliche Gewichtsabnahme.

2. Entwicklung der Organgewichte in Abhängigkeit von der HCB-Belastung

Tab. 3: Absolutes und relatives Lebergewicht der 50 weiblichen Ratten

K1 - K6: 3 Tage nach der letzten HCB-Dosis
K7: 24 Tage nach der letzten HCB-Dosis
K8: 52 Tage nach der letzten HCB-Dosis
K9 + K10: Kontrolltiere

Ratte	absolutes Leber- gewicht (g)	<u>Lebergewicht x 100</u>
		Körpergewicht
1K1	6,25	2,91
2K1	8,16	3,76
3K1	6,54	3,01
4K1	6,25	3,09
5K1	6,90	3,00
1K2	6,23	2,50
2K2	7,00	3,70
3K2	4,55	1,77
4K2	9,90	4,90
5K2	9,27	3,43

Ratte	absolutes Leber- gewicht (g)	<u>Lebergewicht x 100</u> Körpergewicht
1K3	5,00	2,10
2K3	5,15	2,86
3K3	4,82	2,27
4K3	5,46	2,87
5K3	5,88	2,95
1K4	8,20	2,86
2K4	7,08	3,15
3K4	7,70	2,57
4K4	7,05	3,53
5K4	8,63	3,16
1K5	9,63	3,65
2K5	10,00	3,68
3K5	9,79	4,08
4K5	7,07	2,72
5K5	9,17	3,74
1K6	9,96	4,02
2K6	9,00	3,78
3K6	9,08	3,68
4K6	9,46	3,56
5K6	8,92	3,50
1K7	11,32	3,67
2K7	10,48	4,08
3K7	10,51	2,97
4K7	11,75	3,41
5K7	11,74	3,95

Ratte	absolutes Leber- gewicht (g)	<u>Lebergewicht x 100</u> Körpergewicht
1K8	7,47	2,87
2K8	7,25	2,74
3K8	7,40	2,55
4K8	8,12	3,29
5K8	($\pm$)	
1K9	5,34	2,35
2K9	6,36	2,34
3K9	5,78	2,48
4K9	5,65	2,52
5K9	5,45	2,16
1K10	5,13	2,16
2K10	5,63	2,29
3K10	5,57	2,32
4K10	6,99	2,76
5K10	5,93	2,64

Tab. 4: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten und relativen Lebergewichte

	absolutes Leber- gewicht (g)	<u>Lebergewicht x 100</u> Körpergewicht
K1 - K6 (n = 30,3d)	7,60 ($\pm$ 1,74)	3,13 ($\pm$ 0,60)
K7 (n = 5,24d)	11,16 ($\pm$ 0,63)	3,62 ($\pm$ 0,53)
K8 (n = 4,52d)	7,56 ($\pm$ 0,38)	2,86 ($\pm$ 0,22)
K9 + K10 (n = 10,Kontr.)	5,78 ($\pm$ 0,54)	2,40 ($\pm$ 0,196)

Tab. 5: Mittelwerte der relativen Gewichte von Nieren, Herz und Milz

Organ	<u>Organgewicht x 100</u> Körpergewicht
Nieren	
K1 - K6 (n = 30;3d)	0,60
K9 + K10 (n = 10; Kontr.)	0,67
Herz	
K1 - K6 (n = 30;3d)	0,28
K9 + K10 (n = 10; Kontr.)	0,30
Milz	
K1 - K6 (n = 30;3d)	0,20
K9 + K10 (n = 10; Kontr.)	0,18

3. Hämoglobinkonzentrationen und Hämatokritwert der mit HCB behandelten Ratten und der Kontrolltiere

Hämoglobinkonzentration	
K1 - K6 (n = 30;3d)	13,83 ($\pm$ 1,08) mg/100 ml
K9 + K10 (n = 10; Kontr.)	13,86 ($\pm$ 0,97) mg/100 ml
Hämatokritwert	
K1 - K6 (n = 30;3d)	44,6 ($\pm$ 3,02) %
K9 + K10 (n = 10; Kontr.)	47,6 ($\pm$ 1,84) %

4. HCB-Metaboliten, die durch massenspektrometrische, gaschromatographische und kapillargaschromatographische Untersuchungen identifiziert wurden

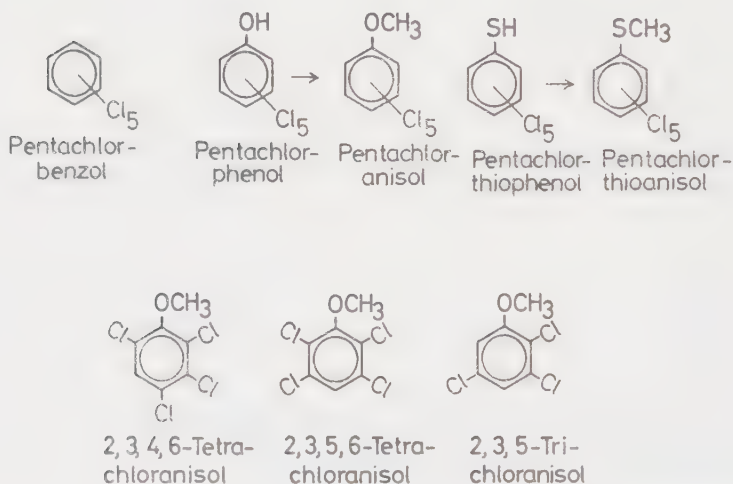


Abb.16: Strukturformeln der in Organen von weiblichen Ratten identifizierten HCB-Metaboliten. PCTP, PCP, Tetra- und Trichlorphenole wurden als Thioanisole bzw. als Anisole bestimmt

Die Metaboliten PCB, PCP und PCTP, letztere nach Methylierung mit Diazomethan, wurden gaschromatographisch und massenspektrometrisch identifiziert. 2,3,4,6- und 2,3,5,6-TCAS konnten mit Hilfe der Kapillargaschromatographie getrennt und durch Vergleich mit authentischen Substanzen identifiziert werden. Das Kapillargaschromatogramm des methylierten Organextrakts zeigte außerdem einen Peak mit der Retentionszeit des authentischen 2,3,5-TCAS.

5. Quantitative Bestimmung von HCB und dessen Metaboliten

Tab. 6: Konzentrationen (ppm) von HCB, PCB, PCAS, PCTAS und 2,3,4,6- und 2,3,5,6-TCAS in der Leber weiblicher Ratten in ppm

Ratte	HCB (ppm)	PCB (ppm)	PCAS (ppm)	PCTAS (ppm)	2,3,4,6-TCAS 2,3,5,6-TCAS (ppm)
3 Tage nach der letzten Dosis					
1K1	65,7	0,027	0,70	0,226	-
2K1	230,2	0,047	6,89	0,414	0,0270
3K1	94,6	0,022	0,90	0,299	0,1760
4K1	272,6	0,028	3,33	0,387	0,0700
5K1	154,1	0,032	2,43	0,460	0,0065
1K2	61,2	0,020	1,00	0,211	0,1030
2K2	146,7	0,042	-	0,413	0,0120
3K2	43,3	0,021	-	0,203	-
4K2	249,0	0,036	5,06	0,238	0,0330
5K2	97,4	0,012	2,00	0,306	0,0900
1K3	54,8	0,031	0,46	0,302	0,0170
2K3	79,7	0,024	1,50	0,224	0,0160
3K3	46,7	0,031	0,57	0,267	0,0570
4K3	127,2	0,026	1,60	0,258	0,0240
5K3	243,5	0,036	0,65	0,405	0,0080
1K4	100,3	0,033	1,04	0,293	0,0150
2K4	163,0	0,006	2,50	0,357	0,0082
3K4	92,5	0,034	1,54	0,231	0,0057
4K4	197,3	0,032	5,01	0,296	0,0130
5K4	105,0	0,052	0,76	0,309	0,0064
1K5	249,2	0,045	4,32	0,512	0,1000
2K5	159,4	0,064	1,92	0,732	0,2000
3K5	104,2	0,053	2,69	0,328	0,0190
4K5	152,6	0,043	1,50	0,454	0,0080
5K5	172,8	0,020	3,64	0,618	0,0189

Ratte	HCB (ppm)	PCB (ppm)	PCAS (ppm)	PCTAS (ppm)	2,3,4,6-TCAS 2,3,5,6-TCAS (ppm)
1K6	207,7	0,031	2,23	0,418	0,1046
2K6	319,9	0,027	3,96	0,394	0,0392
3K6	142,1	0,021	2,38	0,495	0,0116
4K6	136,0	0,067	2,01	0,352	0,0125
5K6	139,9	0,026	0,88	0,285	0,0184

24 Tage nach der letzten Dosis

1K7	49,8	0,0075	1,41	0,284	0,0091
2K7	85,7	0,0077	0,31	0,356	0,0206
3K7	77,3	0,0070	0,63	0,274	0,0044
4K7	75,0	0,0065	0,42	0,214	0,0036
5K7	74,4	0,0066	1,05	0,214	0,0240

52 Tage nach der letzten Dosis

1K8	61,5	0,0112	0,39	0,431	0,0008
2K8	64,5	0,0113	0,82	0,331	0,0236
3K8	42,6	0,0076	0,23	0,284	0,0056
4K8	65,1	0,0073	0,43	0,444	0,0147

5K8 (⊕)

Die Lebern der Kontrolltiere enthielten keine HCB-Metaboliten

Tab. 7: Konzentrationen (ppm) von HCB, PCB, PCAS, PCTAS und der Summe aus 2,3,4,6- und 2,3,5,6-TCAS in Nieren, Herz und Milz weiblicher Ratten

Rattenor- gane	HCB (ppm)	PCB (ppm)	PCAS (ppm)	PCTAS (ppm)	2,3,4,6-TCAS 2,3,5,6-TCAS (ppm)
Nieren (Mittelwerte)					
K1 - 6 (n=30;3d)	111,4	0,012	3,69	0,098	0,075
K7 + 8	47,5	0,008	0,254	0,061	0,018

Rattenor-	HCB	PCB	PCAS	PCTAS	2,3,4,6-TCAS
gane	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	2,3,5,6-TCAS (ppm)

Herz (Mittelwerte)

K1 - 8	80,5	0,005	0,640	0,018	0,010
--------	------	-------	-------	-------	-------

Milz (Mittelwerte)

K1 - 8	67,1	0,011	0,244	0,038	0,009
--------	------	-------	-------	-------	-------

Nieren, Herz und Milz der Kontrolltiere enthielten keine HCB-Metaboliten.

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Datenverarbeitungsanlage und Programme

Datenverarbeitungsanlage: Siemens 4004/151

Programm für die multifaktorielle Varianzanalyse: STATSYS PO 34

Programm für die Histogramme: BMDP 5D

Programm für die Korrelation zwischen den Variablen: BMDP 6P

Im Folgenden werden die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zusammen mit den Daten von Bayerl (6), der die analogen Untersuchungen unter den gleichen Bedingungen an männlichen Ratten durchführte, in Hinblick auf Geschlechtsunterschiede statistisch ausgewertet.

2. Multifaktorielle Varianzanalyse

Der Test auf Gleichheit der Mittelpunktsvektoren, die aus den Konzentrationen von HCB und seinen Metaboliten jeweils für männliche und weibliche Ratten gebildet wurden, ergab für das Signifikanzniveau $p < 0,01$ die in Tab. 8 angegebenen Werte:

Tab. 8: T-Werte und Tafelwerte bei einem Signifikanzniveau $p < 0,01$

Tiere	Freiheitsgrade	T-Wert	Tafelwert
K1 - K6 (n=30;3d)	5/54	20,55608	3,38
K7 (n=5;24d)	5/4	28,71451	15,5
K8 (n=5;52d)	5/3	4,98501	28,2

Der Vergleich von T-Werten und Tafelwerten läßt den Schluß zu, daß sich die Konzentrationsmuster von HCB und seinen Metaboliten in der Leber derjenigen männlichen und weiblichen Ratten, die 3 bzw. 24 Tage nach der letzten HCB-Dosis getötet wurden, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,01$ signifikant unterscheiden. Für die Tiere, die erst 52 Tage nach der letzten

HCB-Dosis getötet wurden, läßt sich eine Signifikanz auch bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ nicht nachweisen.

3. Vergleich der Mittelwerte der HCB- und Metabolitenkonzentrationen in den Lebern von weiblichen und männlichen (6) Ratten

Tab. 9: Gegenüberstellung der Mittelwerte der HCB- und Metabolitenkonzentrationen (ppm) in den Lebern von 39 weiblichen und 40 männlichen (6) Ratten (m = männlich, w = weiblich, $\bar{x}$ = Mittelwert, s = Standardabweichung, t = t-Wert.

Ratten		HCB (ppm)	PCB (ppm)	PCAS (ppm)	PCTAS (ppm)	2,3,4,6-TCAS 2,3,5,6-TCAS (ppm)
K1-K6 (m) (n=30;3d)	$\bar{x}$	192,2	0,048	3,16	0,234	0,017
	s	70,2	0,017	1,70	0,087	0,012
	t	2,457	3,769	2,4050	4,4282	2,530
K1-K6 (w) (n=30;3d)	$\bar{x}$	147,0	0,033	2,12	0,356	0,041
	s	72,5	0,014	1,66	0,123	0,051
	t	2,457	3,769	2,4050	4,4282	2,530
K7 (m) (n=5;24d)	$\bar{x}$	37,2	0,0109	0,34	0,166	0,007
	s	5,4	0,0076	0,10	0,060	0,007
	t	5,4338	1,1141	2,0068	2,7220	0,839
K7 (w) (n=5;24d)	$\bar{x}$	72,4	0,0071	0,76	0,268	0,0123
	s	13,4	0,0005	0,46	0,059	0,0094
	t	5,4338	1,1141	2,0068	2,7220	0,839
K8 (m) (n=5;52d)	$\bar{x}$	30,7	0,0107	0,52	0,116	0,010
	s	12,4	0,0042	0,32	0,043	0,006
	t	3,5426	0,5615	0,2756	6,3221	0,0989
K8 (w) (n=4;52d)	$\bar{x}$	58,4	0,0094	0,47	0,373	0,011
	s	10,6	0,0022	0,25	0,078	0,010
	t	3,5426	0,5615	0,2756	6,3221	0,0989

4. Korrelationen der Konzentrationen von

HCB und HCB-Metaboliten sowie der

HCB-Metaboliten untereinander

in den Lebern von weiblichen und männlichen (6) Ratten

Mit Hilfe des gewählten Programmes wurden die Korrelationen zwischen den Metaboliten und HCB, bzw. den Metaboliten untereinander für weibliche und männliche (6) Ratten errechnet; Abb. 17 zeigt die gefundenen Korrelationskoeffizienten.

K O R R E L A T I O N S K O E F F I Z I E N T E N

♂ \ ♀	Pentachlorbenzol	Pentachlorphenol	Pentachlorthiophenol	Tetrachlorphenol	Hexachlorbenzol
Pentachlorbenzol	1	0,123	0,343	0,091	0,151
Pentachlorphenol	0,355	1	0,295	0,035	<u>0,698</u>
Pentachlorthiophenol	0,575	0,529	1	0,349	<u>0,463</u>
Tetrachlorphenol	0,312	0,241	0,356	1	0,080
Hexachlorbenzol	0,704	<u>0,773</u>	<u>0,653</u>	0,190	1

Abb.17: Korrelationskoeffizienten, die sich aus den Konzentrationen von HCB, PCB, PCP, PCTP und TCP (=Summe aus 2,3,4,6- und 2,3,5,6-TCP) in den Lebern von weiblichen und männlichen (6) Ratten ergaben. Die unterstrichen Zahlenwerte bedeuten signifikante Korrelation.

III. DISKUSSION

Erste Hinweise auf eine interessante Verteilung der HCB-induzierten Porphyrie beim Menschen in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht enthielt die Publikation von Cam und Nigogosyan (14). Dadurch angeregte Untersuchungen an verschiedenen Tierarten zeigten Geschlechtsunterschiede hinsichtlich der Empfindlichkeit gegenüber Störungen des Porphyrinstoffwechsels, der Letalitätssrate bei steigender HCB-Belastung und der Änderung verschiedener biochemischer Parameter; so wiesen weibliche Ratten früher und bei niedrigeren HCB-Dosen Symptome einer Porphyrie auf als männliche (59,67). Experimente von Grant (36), Ippen (51,53) und Simon (112) stützen die Vermutung, daß dieser Geschlechtsunterschied auf einer Wechselwirkung zwischen HCB bzw. dessen Metabolisierung und Geschlechtshormonen beruhen könnte: So reagierten männliche Ratten nach Kastration (36) oder Gabe von Östrogenen (51,53,112) empfindlicher gegenüber Störungen des Porphyrinstoffwechsels durch HCB als die entsprechende Kontrollgruppe, während weibliche Tiere nach Entfernen der Ovarien (36) oder Gabe von Androgenen (112) weniger leicht eine Porphyrie entwickelten als bei alleiniger Belastung mit HCB. Die Verabreichung von Geschlechtshormonen (Östrogenen, Gestagenen, Testosteron) allein verursachte dabei jeweils keine Porphyrie. Koss et al. (64) konnten nach gleichzeitiger Gabe des HCB-Metaboliten PCTP und von δ -Aminolävulinsäure bei weiblichen Ratten eine erhöhte Ausscheidung von Porphyrinen im Urin, insbesondere der mit 4 und 6 Carboxylgruppen, nachweisen; sie sahen daher in PCTP bzw. anderen schwefelhaltigen Metaboliten wichtige Kausalfaktoren der HCB-induzierten Porphyrie.

Der Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit den unter den gleichen Bedingungen an männlichen Ratten von Bayerl (6) gewonnenen Daten zeigt ebenfalls Geschlechtsunterschiede hinsichtlich

a) des Lebergewichts (Abb. 18)

b) der Konzentration von HCB und dessen Metaboliten in den Organen der Versuchstiere (Abb. 19,20,21)

- c) der Korrelationen zwischen den Konzentrationen an HCB und dessen Metaboliten in der Leber (Abb. 17,22)
- d) der Elimination von HCB und PCTP aus der Leber in Abhängigkeit von der Zeit (Abb. 23)

a) Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich des Lebergewichts

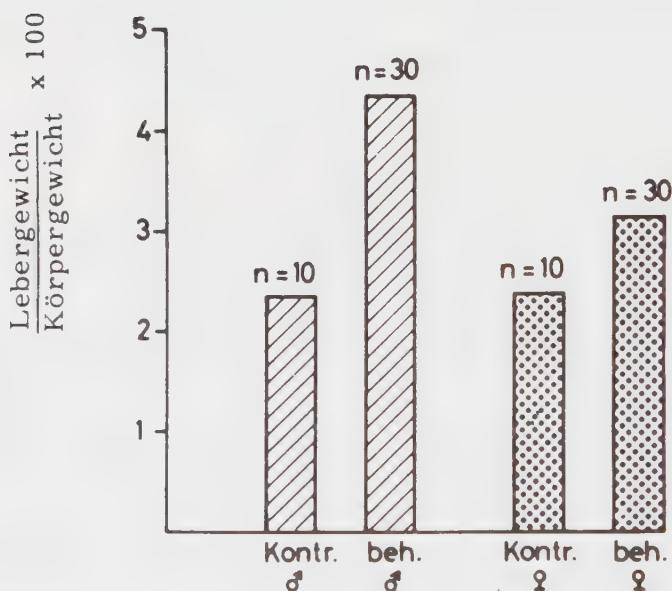


Abb.18: Gewichtszunahme der Rattenleber nach oraler Gabe von 770 mg HCB in 9 Einzeldosen innerhalb von 4 Wochen bei 30 männlichen und 30 weiblichen Ratten

Drei Tage nach der letzten Dosis hatte das Lebergewicht, bezogen auf das Körpergewicht, bei den männlichen Ratten um 85%, bei den weiblichen dagegen nur um 30% gegenüber den Kontrolltieren zugenommen, während die Entwicklung der Gewichte der übrigen Organe kaum einen Geschlechtsunterschied zeigte.

b) Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der Konzentrationen von HCB und HCB-Metaboliten in Organen der Versuchstiere

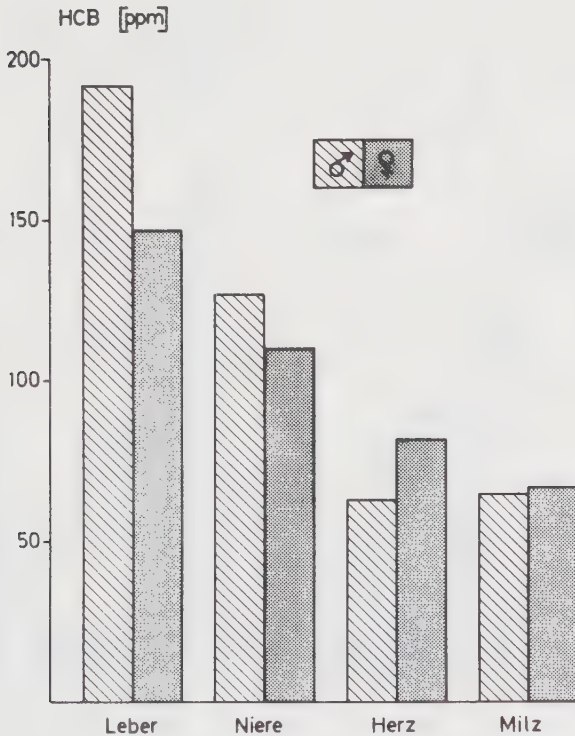


Abb.19: Konzentrationen von HCB in der Leber, Niere, Herz und Milz 30 männlicher (6) und 30 weiblicher Ratten 3 Tage nach der letzten Einzeldosis HCB

Die deutlichsten und statistisch signifikanten ($p < 0,05$) Unterschiede zeigte dabei die Leber.

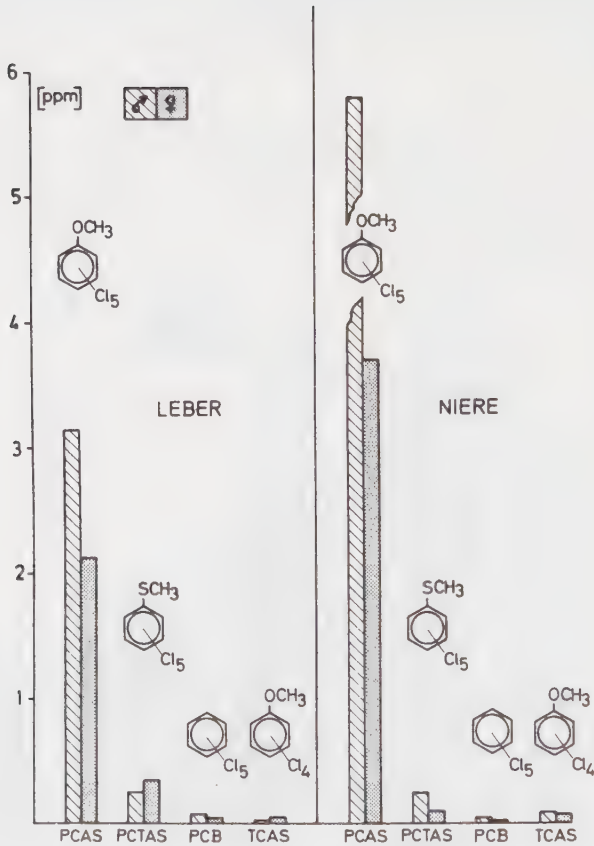


Abb. 20: Konzentrationen der HCB-Metaboliten PCP/PCAS, PCTP/PCTAS, PCB sowie der Summe aus 2,3,4,6- und 2,3,5,6-TCP/TCAS in der Leber und Niere 30 männlicher (6) und 30 weiblicher Ratten 3 Tage nach der letzten Einzeldosis HCB. Phenole und Thiophenole wurden als Anisole bzw. Thioanisole bestimmt.

Leber und Nieren männlicher Tiere enthielten jeweils etwa das 1,5-fache der PCP-Konzentration (als PCAS bestimmt) der weiblichen Ratten, während die Leber weiblicher Tiere im Gegensatz zur Niere etwa 50% mehr PCTP/PCTAS aufwies als die der männlichen. Dieser Unterschied war bei der Leber signifikant ($p < 0,05$), dagegen für Niere, Herz und Milz wegen der geringen Probenzahl keine Signifikanzanalyse möglich war, da wegen der geringen Gewichte dieser Organe und der Nachweisgrenze der Analyseverfahren nur Sammelproben mehrerer gleicher Organe untersucht worden waren.



Abb.21: Konzentrationen der HCB-Metaboliten PCP/PCAS, PCTP/PCTAS, PCB und der Summe aus 2,3,4,6- und 2,3,5,6-TCP/TCAS in Herz und Milz 30 männlicher (6) und 30 weiblicher Ratten 3 Tage nach der letzten Einzeldosis HCB. Phenole und Thiophenole wurden als Anisole bzw. Thioanisole bestimmt. Durch multifaktorielle Varianzanalyse ließ sich ein Geschlechtsunterschied des Konzentrationsmusters an HCB und dessen Metaboliten in der Leber insgesamt auf dem Signifikanzniveau $p < 0,01$ nachweisen (s. Tab.8).

c) Geschlechtsspezifische Unterschiede hinsichtlich der Korrelationen zwischen den Konzentrationen an HCB und HCB-Metaboliten in der Leber

Die Untersuchungen des Zusammenhangs zwischen den Konzentrationen an HCB und HCB-Metaboliten bzw. der Metaboliten untereinander (Abb. 17) in der Rattenleber ergaben eine signifikante Korrelation HCB - PCTP sowie HCB - PCP. Die Korrelationskoeffizienten waren für die Leber weiblicher Ratten generell niedriger als für die Leber männlicher (6) Tiere.

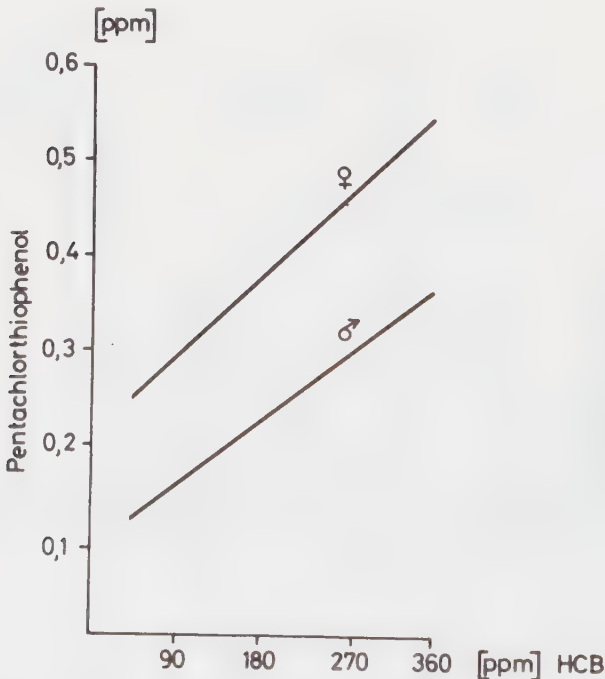


Abb.22: Korrelation der Konzentrationen von HCB und PCTP in der Leber 30 männlicher (6) und 30 weiblicher Ratten 3 Tage nach Verabreichung der letzten Einzeldosis HCB

Nach der in Abb. 22 graphisch dargestellten Korrelation zwischen den Konzentrationen von HCB und PCTP enthält die Leber weiblicher Ratten, bezogen auf die HCB-Konzentration, deutlich mehr PCTP als die Leber männlicher (6) Tiere. Für PCP besteht kein derartiger Unterschied.

d) Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der Elimination von HCB und PCTP in Abhängigkeit von der Zeit

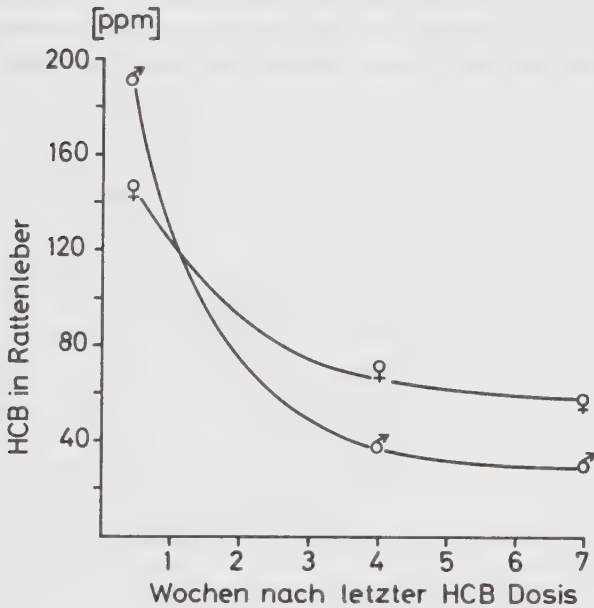


Abb.23: Abnahme der HCB-Konzentration in der Leber von männlichen (6) und weiblichen Ratten in Abhängigkeit von der Zeit nach der letzten HCB-Dosis (n_3 Tage = 30, n_4 Wo = 5, n_7 Wo = 5)

Die Konzentrationen von HCB und PCTP nehmen in der Leber weiblicher Ratten langsamer ab als in der Leber männlicher (6) Tiere.

Von Interesse ist, daß die Konzentrationen von PCTP in der Leber weiblicher Ratten höher ist und langsamer abnimmt als in der Leber männlicher Tiere, was möglicherweise mit der höheren Empfindlichkeit weiblicher Ratten gegenüber Störungen des Porphyrinstoffwechsels durch HCB in Zusammenhang steht und somit die von Koss et al. (64) geäußerte Vermutung, PCTP bzw. andere schwefelhaltige Metaboliten könnten in der Pathogenese der HCB-induzierten Porphyrie eine wesentliche Rolle spielen, stützt.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Hexachlorbenzol (HCB) gehört heute zu den bedeutendsten ubiquitär vorkommenden Umweltchemikalien. Auf schädliche Wirkungen von HCB am Menschen wurde man Mitte der fünfziger Jahre in der Türkei aufmerksam. Nach Verwendung von mit HCB gebeiztem Saatgut für Nahrungszwecke kam es zu Massenvergiftungen mit den Symptomen einer Porphyria cutanea tarda. Dabei zeigte sich eine interessante Verteilung der Porphyrie in Abhängigkeit vom Geschlecht. 76,4% der Patienten waren männlichen, 23,6% weiblichen Geschlechts. Geschlechtsabhängige Unterschiede in der Porphyrieentwicklung durch HCB sind auch bei Ratten bekannt. Die höhere Empfindlichkeit weiblicher Tiere wird mit Wirkungen von HCB, Stoffwechselprodukten und Geschlechtshormonen in Zusammenhang gebracht. Diese Annahme stützt sich auf Versuchsergebnisse, die zeigten, daß sich die Symptome der HCB-Porphyrie bei männlichen Ratten durch Kastration oder durch gleichzeitige Östrogengaben verstärken ließen, während weibliche Tiere nach Entfernen der Ovarien weniger empfindlich wurden. Die Verabreichung von Geschlechtshormonen allein bewirkte keine Porphyrie.

Die geschlechtsabhängigen Unterschiede in der Störung des Porphyrinstoffwechsels waren der Anlaß, die Biotransformation von HCB in männlichen und weiblichen Ratten zu untersuchen. Da Koss et al. (64) vermuteten, daß Thioverbindungen eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der HCB-induzierten Porphyrie spielen, sollten vor allem schwefelhaltige Metaboliten ermittelt werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen an weiblichen Ratten werden mit den Ergebnissen verglichen, die Bayerl (6) bei analogen Untersuchungen an männlichen Ratten fand.

40 weiblichen Ratten wurden je 770 mg HCB pro kg Körpergewicht, in Erdnußöl gelöst, in 9 gleichen Einzeldosen innerhalb von vier Wochen oral verabreicht. 30 Tiere wurden 3 Tage nach der letzten Dosis getötet, Leber, Nieren, Herz und Milz entnommen, gewogen und mit Organgewichten von 10 Kontrolltieren verglichen. Jeweils weitere 5 Tiere wurden 4 bzw. 7 Wochen später getötet und die Organe entnommen.

Zur Isolierung von HCB und seinen Metaboliten wurden die Organe einer simultanen Wasserdampfdestillation und Extraktion (109) unterworfen. Die gewonnenen Hexanextrakte wurden mit einer Lösung von Diazomethan in n-Hexan methyliert und gaschromatographisch, kapillargaschromatographisch und massenspektrometrisch untersucht. Identifiziert wurden neben dem Substrat HCB die Metaboliten Pentachlorbenzol, Pentachlorphenol als Pentachloranisol, Pentachlorthiophenol als Pentachlorthioanisol und 2,3,4,6- und 2,3,5,6-Tetrachlorphenol als Tetrachloranisole.

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse ergab für den HCB-Stoffwechsel in der Leber weiblicher und männlicher (6) Ratten signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede:

1. Die Konzentration von HCB und der HCB-Metaboliten Pentachlorbenzol, Pentachlorphenol, Pentachlorthiophenol und 2,3,4,6-/2,3,5,6-Tetrachlorphenol unterscheiden sich in der Leber weiblicher und männlicher (6) Ratten signifikant.
2. Eine signifikante Korrelation besteht zwischen den Konzentrationen von HCB und Pentachlorphenol sowie Pentachlorthiophenol in der Leber. Bei gleicher HCB-Konzentration enthält die Leber weiblicher Ratten Pentachlorthiophenol in deutlich höherer Konzentration als die Leber männlicher (6) Tiere.
3. Die HCB- und Pentachlorthiophenolkonzentration nimmt in der Leber weiblicher Ratten langsamer ab als in der Leber männlicher (6) Tiere.

Diese Befunde stehen möglicherweise mit der höheren Empfindlichkeit weiblicher Ratten gegenüber Störungen des Porphyrinstoffwechsels in Zusammenhang und stützen somit die von Koss et al. (64) geäußerte Vermutung, PCTP bzw. andere schwefelhaltige Metaboliten könnten in der Pathogenese der durch HCB induzierten Porphyrie eine wesentliche Rolle spielen.

V. LITERATURVERZEICHNIS

1. ACKER, L. und SCHULTE, E.:
Über das Vorkommen chlorierter Kohlenwasserstoffe im menschlichen Fettgewebe und in Humanmilch. Dtsch. Lebensmitt. Rdsch. 66, 385, (1970)
2. ACKER, L. und SCHULTE, E.:
Chlorkohlenwasserstoffe im menschlichen Fett. Naturwiss. 61, 32, (1974)
3. AVRAHAMI, M.:
Hexachlorobenzene: Accumulation and Elimination of HCB in pigs after oral dosing. N. Zeal. J. Exp. Agr. 3, 285, (1975)
4. AVRAHAMI, M., STEELE, R.T.:
Hexachlorobenzene: The effects of feeding HCB to growing chickens. N. Zeal. J. Agr. Res. 15, 489, (1972)
5. AVRAHAMI, M., STEELE, R.T.:
Hexachlorobenzene: Accumulation and Elimination of HCB in sheep after oral dosing. N. Zeal. J. Agric. Res. 15, 476, (1972)
6. BAYERL, J.:
Quantitative Bestimmung von Metaboliten des Pestizids Hexachlorbenzol in Organen von männlichen Ratten. Dissertation, LMU München, 1980
7. BECK, J., HANSEN, K.E.:
The degradation of quintozene, pentachlorobenzene, hexachlorobenzene and pentachloroaniline in soil. Pestic. Sci. 5, 41, (1974)

- 8 BJORSETH, A., LUNDE, DYBING, E.:
Residues of persistent chlorinated hydrocarbons in human tissues as studied by neutron activation analysis and gas chromatography. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 18, 581, (1977)
- 9 BOOTH, N.H., McDOWELL, J.R.:
TOXICITY of Hexachlorobenzene and associated residues in edible animal tissues. J. Amer. Vet. Med. Ass. 166, 591, (1975)
- 10 BRADY, M.N., SIYALI, D.S.:
HCB in human body fat. Med. J. Aust. 1, 158, (1972)
- 11 BURNS, J.E., MILLER, F.M., GOMES, E.D., ALBERT, R.A.:
Hexachlorobenzene exposure from contaminated DCPA in vegetable spraymen. Arch. Environ. Health 29, 192, (1974)
- 12 BURNS, J.E., MILLER, F.M.:
Hexachlorobenzene contamination: Its effect in a Louisiana population. Arch. Environ. Health 30, 44, (1975)
- 13 CABRAL, J.R.P., SHUBIK, P., MOLLNER, T., RAITNO, F.:
Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters Nature 269, 510, (1977)
- 14 CAM, C., NIGOGOSYAN, G.:
Acquired toxic porphyria cutanea tarda due to HCB. J. Amer. Med. Ass. 183, 88, (1963)
- 15 CARLSON, G.P.:
Chlorinated benzene induction of hepatic porphyria. Experimentia 33, 1627, (1977)

- 16 CARLSON, G.P., TARDIFF, R.G.:
Effect of chlorinated benzenes on the metabolism of foreign organic compounds. Toxicol. Appl. Pharmacol. 36, 383, (1976)
- 17 CHADWICK, R.W., CHADWICK, C.J., FREAL, J.J., BRYDEN, C.C.:
Comparative enzyme induction and lindane metabolism in rats pre-treated with various organochlorine pesticides
Xenobiotica 7, 235, (1977)
- 18 COURTNEY, K.D., COPELAND, M.F., ROBBINS, A.:
The effects of pentachloronitrobenzene, hexachlorobenzene and related compounds on fetal development. Toxicol. Appl. Pharmacol. 35, 239, (1976)
- 19 CURLEY, A., BURSE, V.W., JENNINGS, R.W., VILLANUEVA, E.C., TOMATIS, L., AKAZAKI, K.:
Chlorinated hydrocarbon pesticides and related compounds in adipose tissue from people of Japan. Nature 242, 338, (1973)
- 20 DE MATTEIS, F., PRIOR, B.E., RIMINGTON, C.:
Nervous and biochemical disturbances following HCB intoxication. Nature 191, 363, (1961)
- 21 DEN TONKELAAR, E.M., VAN ESCH, G.J.:
No-effect levels of organochlorine pesticides based on induction of microsomal liver enzymes in short-term toxicity experiments. Toxicology 2, 371, (1974)
- 22 DEN TONKELAAR, E.M., VERSHUUREN, H.G., BANKOVSKA, J., DE VRIES, T., KROES, R., VAN ESCH, G.J.:
Hexachlorobenzene toxicity in pigs. Toxicol. Appl. Pharmacol. 43, 137, (1978)
- 23 DINGLE, J.G.P., PALMER, W.A.:
Residues of HCB in subcutaneous and butter fat of cattle
Austr. J. Exp. Agr. Anim. Husband. 17, 712, (1977)

- 24 DYBING, E., AUNE, T.:
Hexachlorobenzene induction of 2,4-diaminoanisole mutagenicity on vitro. Acta Pharmacol. Toxicol. 40, 575, (1977)
- 25 ELDER, G.H., EVANS, J.O., MATLIN, S.A.:
The effect of the porphyrinogenic compound hexachlorobenzene on the activity of hepatic uroporphyrinogen decarboxylase in the rat. Clin. Sci. Molec. Med. 51, 71, (1976)
- 26 ENGST, R., MACHOLZ, R.M., KUJAWA, M.:
Metabolism of Hexachlorobenzene (HCB) in rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 16, 248, (1976)
- 27 ENGST, R., MACHOLZ, R.M., KUJAWA, M.:
Identifizierung von Metaboliten und der Abbauweg des Hexachlorbenzols in einer Schimmelpilzkultur. Die Nahrung 19, 603, (1975)
- 28 FRIES, G.F.:
The kinetics of halogenated hydrocarbons - retention and elimination in dairy cattle, in: Fate of pesticides in large animals, p. 159, by IVIE, G.W. and DOROUGH, H.W. New York, Academic Press, (1977)
- 29 FRIES, G.F., MARROW, G.S.:
Distribution of hexachlorobenzene residues in beef steers J. Anim. Sci. 45, (5), 1160, (1977)
- 30 GOERZ, G., VIZETHUM, W., LISSNER, R.:
Verhalten des hepatischen Glutathion (GSH) bei der Ratte unter kontinuierlicher Hexachlorbenzol (HCB) -Gabe
Dermatosen in Beruf und Umwelt (im Druck), 1980

- 31 GRALLA, E.J., FLEISCHMANN, R.W., LUTHRA, Y.K., HAGOPIAN, M.,
BAKER, J.R., ESBER, H., MARCUS, W.:
Toxic effects of hexachlorobenzene after daily administration to beagle dogs for one year. Toxicol. Appl. Pharmacol. 40, 227, (1977)
- 32 GRANT, D.L., HATTINA, G.V., MUNRO, I.C.:
Hexachlorobenzene accumulation and decline of tissue residues and relationship to some toxicity criteria in rats Environ. Qual. Saf. (Suppl) 3, 562, (1975)
- 33 GRANT, D.L., HATTINA, G.V., PHILLIPS, W.E.J.:
Effect of hexachlorobenzene on rat reproduction. Toxicol. Appl. Pharmacol. 33, 167, (1975)
- 34 GRANT, D.L., IVERSON, F., HATTINA, G.V., VILLENEUVE, D.C.:
Effects of hexachlorobenzene on liver porphyrin levels and microsomal enzymes in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 29, 101, (1974)
- 35 GRANT, D.L., IVERSON, F., HATTINA, G.V., VILLENEUVE, D.C.:
Effects of hexachlorobenzene on liver porphyrin levels and microsomal enzymes in the rat. Environ. Physiol. Biochem. 4, 159, (1974)
- 36 GRANT, D.L., SHIELDS, J.B., VILLENEUVE, D.C.:
Chemical (HCB) porphyria: Effect of removal of sex organs in the rat. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 14, 422, (1975)
- 37 GOERZ, G., KRIEG, T., BOLSEN, K., LISSNER, R.:
Long time HCB exposition of rats: Influence on the porphyrin excretion in the urine and on the cytochrome P-450 in the liver. Arch. Derm. Res. 259 (2), 199, (1977)

- 38 GOERZ, G., KRIEG, T.:
Porphyria cutanea tarda. Therapiemöglichkeiten und -ergebnisse. Dtsch. Med. Wschr. 103 (34), 1329, (1978)
- 39 HÄFNER, M.:
Über den Abbau von Quintozen in Gemüsekulturen und gärtnerisch genutzten Erden, Teil 2. Anz. Schädlingskd., Pflanzenschutz, Umweltschutz 50, 1, (1977)
- 40 HÄFNER, M.:
Hexachlorbenzolzrückstände im Gemüse - bedingt durch Aufnahme des Hexachlorbenzols aus dem Boden. Gesunde Pflanzen 27, 37, (1975)
- 41 HÄFNER, M.:
Untersuchungen zur Kontamination von Gartenerden und landwirtschaftlich genutzten Böden mit Hexachlorbenzol und Pentachlornitrobenzol. Gesunde Pflanzen 27, 81, (1975)
- 42 HÄFNER, M.:
Über die Aufnahme von Hexachlorbenzol und Pentachlornitrobenzol durch Gemüsepflanzen. Gesunde Pflanzen 27, 169, (1975)
- 43 HÄFNER, M.:
Quintozen- und Hexachlorbenzolzrückstände bei Gemüsekulturen
Gesunde Pflanzen 28, 93, (1976)
- 44 HANSEN, L.G., WILSON, D.W., BYERLY, C.S., SUNDLOF, S.F.,
DORN, S.B.:
Effects and residues of dietary hexachlorobenzene in growing swine. J. Toxicol. Environ. Hlth. 2, 557, (1977)
- 45 HEMBRY, F.G., SMART, L.I., DIXON, J.M.:
Removal of HCB contamination from beef cattle. Louisiana Agric. 19, 6, (1976)

- 46 HOLZMANN, H.:
Zur Verwendung von Desferrioxamin bei Porphyria cutanea tarda. Med. Welt 19, 1078, (1963)
- 47 IATROPOULOS, M.J., HOBSON, W., COULSTON, F., KORTE, F.:
Lactation-transfer changes caused by Clophen A 30 and hexachlorobenzene in male and female infant rhesus monkeys
Toxicol. Appl. Pharmacol. 41, A 101, (1977)
- 48 IATROPOULOS, M.J., HOBSON, W., KNAUF, V., ADAMS, H.P.:
Morphological effects of hexachlorobenzene toxicity in female rhesus monkeys. Toxicol. Appl. Pharmacol. 37, 433, (1976)
- 49 IATROPOULOS, M.J., FELT, R., COULSTON, F., KORTE, F.:
Histopathology of low chlorinated biphenyls and hexachlorobenzene in female rhesus monkeys. Toxicol. Appl. Pharmacol. 41, A 100, (1977)
- 50 IATROPOULOS, M.J., MILLING, A., MÜLLER, W.F., NOHYNEK, G., ROZMAN, K., COULSTON, F., KORTE, F.:
Absorption, transport and organotropism of dichlorbiphenyl (DCB), dieldrin and hexachlorobenzene (HCB) in rats
Environ. Res. 10, 384, (1975)
- 51 IPPEN, H., AUST, D.:
Über den Einfluß von Steroid-Hormonen auf die experimentelle Porphyrie der Ratte durch Hexachlorbenzol. Klin. Wschr. 50 (16), 793, (1972)
- 52 IPPEN, H.:
Allgemeinsymptome der späten Hautporphyrie (Porphyria cutanea tarda) als Hinweis für deren Behandlung. Dtsch. Med. Wschr. 86, 127, (1961)

- 53 IPPEN, H., AUST, D., GOERZ, G.:
Klinisch-experimentelle Untersuchungen zur Entstehung der
Porphyrrien: III. Wirkung einiger Steroid-Hormone auf die
"latente Hexachlorbenzol-Porphyrrie" der Ratte. Arch. Der-
matol. Forsch. 245, 305, (1972)
- 54 IVERSON, F.:
Induction of paraoxon dealkylation by hexachlorobenzene (HCB)
and mirex. J. Agric. Food Chem. 24, 1238, (1976)
- 55 IWANOW, E., HLEBAROWA, M., KRUSTEV, L., DIMITROV, P.,
ORBETZOVA, V., NENOV, P., KIRJAKOV, A., TSONTSCHEVA, A.:
Biochemische und histomorphologische Veränderungen bei der
experimentellen, durch Hexachlorbenzol hervorgerufenen Por-
phyrie. Acta Hepato-Gastroenterol. 20, 39, (1973)
- 56 JACOBS, A., HELLMUND, E., EBERLE, S.H.:
Speicherung von organischen Spurenverunreinigungen des Was-
sers im Körper: Zeit- und Dosisabhängigkeit der Akkumula-
tion von Hexachlorbenzol und Tetrachlorbenzolderivaten im
Rattenversuch. Vom Wasser 48, 255, (1977)
- 57 JANSSON, B., BERGMAN, A.:
Sulfur-containing derivatives of hexachlorobenzene (HCB) -
metabolites in the rat. Chemosphere 7 (3), 257, (1978)
- 58 KARPATHIOS, T., MAOUNIS, F., THEODORIDIS, C.:
Hexachlorobenzene induced porphyria cutanea tarda in Greece
Delt. Paidiat. Klin. Panep. Athin. 20 (4), 217, (1973)
- 59 KIMBROUGH, R.D., LINDER, R.E.:
The toxicity of technical hexachlorobenzene on the Sherman
strain rat. A preliminary study. Res. Comm. Chem. Pathol.
Pharmacol. 8, 653, (1974)

- 60 KLIMMER, O.R.:
Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel, Abriß einer Toxikologie und Therapie von Vergiftungen, 54 Hattingen
Hundt-Verlag, (1971)
- 61 KOSS, G., KORANSKY, W.:
Studies on the toxicology of hexachlorobenzene
I. Pharmacokinetics. Arch. Toxicol. 34, 103, (1975)
- 62 KOSS, G., KORANSKY, W., STEINBACH, K.:
Studies on the toxicology of hexachlorobenzene
II. Identification and determination of metabolites. Arch.
Toxicol. 35, 107, (1976)
- 63 KOSS, G., SEUBERT, S., SEUBERT, A., KORANSKY, W., IPPEN, H.:
Studies in the toxicology of hexachlorobenzene
III. Observations in a long-term experiment. Arch. Toxicol.
40 (4), 285, (1978)
- 64 KOSS, G., SEUBERT, S., SEUBERT, A., KORANSKY, W., IPPEN, H.:
On induction of porphyria by metabolites of hexachlorobenzene. Joint Meet. German and Italian Pharmacol., Venezia,
Oct. 4-6, (1977)
- 65 KOSZO, F., SIKLOSI, C., SIMON, N.:
Liposome model experiment for the study of assumed membrane damage in porphyria cutanea tarda. Biochem. Biophys.
Acta 363, 182, (1974)
- 66 KOSZO, F., SIKLOSI, C., SIMON, N.:
Hexachlorobenzene porphyria and hexachlorobenzene catabolism in rats. Biochem. Biophys. Res. Commun. 80 (4), 781,
(1978)
- 67 KUIPER-GOODMAN, T., GRANT, D.L., MOODIE, C.A., KORSRUD, G.O.,
MUNRO, I.C.:
Subacute toxicity of hexachlorobenzene in the rat. Toxicol.
Appl. Pharmacol. 40, 529, (1977)

- 68 LEONI, V., D'ARCA, S.U.:
Experimental data and critical review of the occurrence of hexachlorobenzene in the Italian environment. *Sci. Total Environ* 5, 253, (1976)
- 69 LISSNER, R., GOERZ, G., EICHENAUER, M.G., IPPEN, H.:
Hexachlorobenzene-induced porphyria in rats - Relationship between porphyrin excretion and induction of drug metabolizing enzymes. *Biochem. Pharmacol.* 24, 1729, (1975)
- 70 LOOSE, L.D., PITTMAN, K.A., BENITZ, K.F., SILKWORTH, J.B.:
Polychlorinated biphenyl and hexachlorobenzene induced humoral immunosuppression. *J. Reticuloendothel. Soc.* 22 (3), 253, (1977)
- 71 LUI, H., SWEENEY, G.D.:
Hepatic metabolism of hexachlorobenzene in rats. *FEBS Lett.* 51, 225, (1975)
- 72 LUNDE, G., BJÖRSETH, A.:
Human blood samples as indicators of occupational exposure to persistent chlorinated hydrocarbons. *Sci. Total Environ.* 8 (3), 241, (1977)
- 73 LUQUET, F.M., GOURSAUD, J., CASALIS, J.:
Pollution des laits de femme par les résidus de pesticides organochlorés en France. *Le Lait* 55, 207, (1975)
- 74 LUTHRA, Y.K., ESBER, H.J., GRALLA, E.J., HAGOPIAN, M., MARCUS, W.:
Serum lipoprotein profile of dogs treated with hexachlorobenzene. *Fed. Proc.* 36, A 460, (1977)
- 75 MEDLINE, A., BAIN, E., MEMON, A.J., HABERMANN, H.F.:
HCB and rat liver. *Arch. Pathol.* 96, 61, (1973)

- 76 MEHENDALE, H.M., FIELDS, M., HATTHEWS, H.B.:
Metabolism and effects of hexachlorobenzene on hepatic microsomal enzymes in the rat. *J. Agric. Food Chem.* 23, 261, (1975)
- 77 MELIS, R.:
Toxic action of hexachlorobenzene for warm-blooded animals
Nuovi Ann. Igiene e Microbiol. 6, 361, (1955)
- 78 MENDOLA, J.T., RISEBROUGH, R.W., BLONDEL, J.:
Contamination de l'avifaune carmarguaise par des residus organochlorés. *Environ. Pollut.* 13, 21, (1977)
- 79 MENDOZA, C.E., GRANT, D.L., SHIELDS, J.B.:
Body burden of hexachlorobenzene in suckling rats and its effect on various organs and on liver porphyrin accumulation. *Environ. Physiol. Biochem.* 5, 460, (1975)
- 80 METCALF, R.L., KAPOOR, I.P., Y-LU, P., SCHUTH, C.K., SHERMAN, P.:
Model ecosystem studies of the environmental fate of six organochlorine pesticides. *Environ. Hlth. Perspect.* 4, 35, (1973)
- 81 MOLLENHAUER, H.H., JOHNSON, J.H., YOUNGER, R.L., CLARK, D.E.:
A unique intracellular aberration related to hexachlorobenzene ingestion. *Amer. J. Vet. Res.* 37, 847, (1976)
- 82 MOLLENHAUER, H.H., JOHNSON, J.H., YOUNGER, R.L., CLARK, D.E.:
Ultrastructural changes in the liver of the rat fed hexachlorobenzene. *Amer. J. Vet. Res.* 36, 1777, (1975)
- 83 MORITA, M., MIMURA, S., OHI, G., YAGYU, H., NISHIZAWA, T.:
A systemic determination of chlorinated benzenes in human adipose tissue. *Environ. Pollut.* 9, 175, (1975)

- 84 OCKNER, R.K., SCHMID, R.:
Acquired porphyria in man and rat due to HCB intoxication
Nature 189, 499, (1961)
- 85 PARKE, D.V., WILLIAMS, R.T.:
The Metabolism of Benzene
a) The determination of phenylmercapturic acid in urine
b) Mercapturic acid excretion by rabbits receiving benzene
Biochem. J. 48, 624, (1951)
- 86 PESENDORFER, H.:
Rückstände von Organochlorpestiziden (DDT u.a.) und polychlorierten Biphenylen (PCB's) in der Muttermilch. Wien.
Klin. Wochenschr. 87, 732, (1975)
- 87 PETERS, H.A.:
Hexachlorobenzene poisoning in Turkey. Fed. Proc. 35 (12),
2400, (1976)
- 88 PETERS, H.A., JOHNSON, S.A.M., CAM, S., ORAL, S., MÜFTÜ, Y.,
ERGENE, T.:
Hexachlorobenzene-induced porphyria: Effect of chelation
on the disease, porphyrin and metal metabolism. Amer. J.
Med. Sci. 251, 104, (1966)
- 89 POZO LORA, R., HERRERA MAREACHE, A., POLO VILLAR, L.M.,
LOPEZ GIMENEZ, R., JODRAL VILLAREJO, M., IGLESIAS PEREZ, J.:
Investigaciones sobre la contaminación por hexachlorobenzeno (HCB) de la leche natural de vaca de la region sur de Espana. Arch. Zootecnia 26, 45, (1977)
- 90 QUINLIVAN, S.C., GHASSEMI, M., LESHENDONK, T.V.:
Sources, characteristics and treatment and disposal of industrial wastes containing hexachlorobenzene. J. Hazardous Mat. 1, 343, (1977)

- 91 RAAB, W., PIETSCHMANN, H., HARTL, O.:
Serumenzymaktivitäten bei der experimentellen Porphyrrie der Ratte. *Arzneimittelforsch.* 17, 985, (1967)
- 92 RAJAMANICKAM, C., AMRUTAVALLI, J., RAO, M.R.S., PADMANABAN, G.:
Effect of hexachlorobenzene on haem synthesis. *Biochem. J.* 129, 381, (1972)
- 93 RAPPL, A., WAIBLINGER, W.:
Zur Kontamination von Muttermilch mit Rückständen chlorierter Kohlenwasserstoffe. *Dtsch. Med. Wschr.* 100, 228, (1975)
- 94 RENNER, G., SCHUSTER, K.P.:
Studies on the metabolism of hexachlorobenzene. *Naunyn - Schmiedebergs Archives Pharmacol. Suppl. II V* 297 R5/17
- 95 RENNER, G., SCHUSTER, K.P.:
2,4,5-Trichlorophenol, a new urinary metabolite of hexachlorobenzene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 39, 355, (1977)
- 96 RENNER, G., RICHTER, E., SCHUSTER, K.P.:
N-Acetyl-S-(pentachlorophenyl)cysteine, a new urinary metabolite of hexachlorobenzene. *Chemosphere* 7, 663, (1978)
- 97 RENNER, G., RICHTER, E., SCHUSTER, K.P.:
Synthesis of hexachlorobenzene metabolites. *Chemosphere* 7, 669, (1978)
- 98 RENNER, G., SCHUSTER, K.P., KUHNEN, H.B., STACHEL, H.-D.:
Isolierung von Stoffwechselprodukten der Pestizide Hexachlorbenzol und Pentachlornitrobenzol aus Harn und Faeces von Ratten und Kaninchen. *Chemosphere* 7, 943, (1978)
- 99 RICHTER, E., SCHMID, A.:
Hexachlorbenzolgehalt im Vollblut von Kindern. *Arch. Toxicol.* 35, 141, (1976)

- 100 RICHTER, E., LAY, J.P., KLEIN, W., KORTE, F.:
Enhanced elimination of hexachlorobenzene in rats by light
liquid paraffin. Chemosphere 6 (6), 357, (1977)
- 101 ROHLEDER, K., ROHR, K., DAENICKE, R.:
Untersuchungen zum Übergang von Hexachlorbenzol in Kuh-
milch. Milchwiss. 31, 416, (1976)
- 102 ROZMAN, K., MUELLER, W., IATROPOULOS, M., COULSTON, F.,
KORTE, F.:
Ausscheidung, Körperverteilung und Metabolisierung von
Hexachlorbenzol nach oraler Einzeldosis in Ratten und Rhe-
susaffen. Chemosphere 5, 289, (1975)
- 103 ROZMAN, K., MUELLER, W., COULSTON, F., KORTE, F.:
Long-term feeding study of hexachlorobenzene in rhesus
monkeys. Chemosphere 6, 81, (1977)
- 104 ROZMAN, K., MUELLER, W., COULSTON, F., KORTE, F.:
Chronic low dose exposure of rhesus monkeys to hexachloro-
benzene. Chemosphere 7 (2), 177, (1978)
- 105 SACKMAUEROVA, M., PALUSOVA, O., SZOKOLAY, A.:
Contribution to the study of drinking water, Danube water
and biocenose contamination with chlorinated insecticides
Water Res. 11, 551, (1977)
- 106 SAN MARTIN DE VIALE, L.C., DEL C. RIOS, M., WAINSTOCK DE
CALMANOVICI, B., TOMIO, J.M.:
Porphyrins and porphyrinogen carboxy-lyase in hexachloro-
benzene-induced porphyria. Biochem. J. 168, 393, (1977)
- 107 SAVITSKII, I.V.:
The basis for determining safe permissible concentrations
of hexachlorobenzene and pentachloronitrobenzene in the
air. Vopr. Prom. i Sel'skokhoz. Toksikol. Kievsk. Med.
Inst. 158, (1964)

- 108 SCHMID, R.:
Cutaneous porphyria in Turkey. New. Engl. J. Med. 263, 397,
(1960)
- 109 SCHULTZ, T.H., FLATH, R.A., MON, T.R., EGDELING, S.B.,
TERANISHI, R.:
Isolation of volatile components from a model system. J.
Agric. Food Chem. 25, 446, (1977)
- 110 SCHULZE, H., GEHRMANN, J., FASSBENDER, C.P.:
Modellversuche an Fasanen mit je 1 Insektizid (Lindan),
1 Herbizid (Terbutryn), 1 Mineraldünger (Kalkammonsalpe-
ter) und 1 Fungizid (Hexachlorbenzol)
V. Mitteilung: Empfindlichkeit der verschiedenen Serum-
enzyme für den Nachweis einer Organschädigung nach Pestizid-
belastung. Rückstände in Leber, Fett- und Muskelgewebe
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 83, 263, (1976)
- 111 SCHUSTER, K.P.:
Untersuchung der Biotransformation des Pestizids Hexa-
chlorbenzol. Dissertation, LMU München (1979)
- 112 SIMON, N., DOBOZY, A., BERKO, G.:
Der Einfluß der Sexualhormone auf den Porphyrinstoffwech-
sel in Modellversuchen. Derm. Mschr. 159, 868, (1973)
- 113 SIMON, N., DOBOZY, A., BERKO, G.:
Porphyrin metabolism and clinical laboratory investigations
in model experiments and on patients with porphyria cuta-
nea tarda. Arch. Klin. Exp. Dermatol. 238, 38, (1970)
- 114 SIMON, N., SIKLOSI, C.:
Beeinflussung des Porphyrinstoffwechsels durch Umweltfak-
toren. Berufsdermatosen 22 (6), 237, (1974)

- 115 SIMON, N., SIKLOSI, C.:
Experimentelles Porphyrin-Modell mit Hexachlor-Cyclohexan
Z. Hautkr. 49 (11), 497, (1974)
- 116 SIYALI, D.S.:
HCB and other organochlorine pesticides in human blood
Med. J. Aust. 2, 1063, (1972)
- 117 SIYALI, D.S.:
Polychlorinated biphenyls, hexachlorobenzene and other
organochlorine pesticides in human milk. Med. J. Aust. 2,
815, (1973)
- 118 STACEY, C.I., THOMAS, B.W.:
Organochlorine pesticide residues in human milk, Western
Australia - 1970-71. Pestic. Monit. J. 9, 64, (1975)
- 119 STONARD, M.D.:
Mixed type hepatic microsomal enzyme induction by hexa-
chlorobenzene. Biochem. Pharmacol. 24, 1959, (1975)
- 120 STONARD, M.D., NENOV, P.Z.:
Effect of hexachlorobenzene on hepatic microsomal enzymes
in the rat. Biochem. Pharmacol. 23, 2175, (1974)
- 121 STRIK, J.J.T.W.A., WIT, J.G.:
Hepatic porphyria in birds and mammals
TNO-Nieuws 27, 604, (1972)
- 122 STRIK, J.J.T.W.A.:
Toxicity of HCB and HBB. Medel. Fac. Landbouw. Rijk, 38,
709, (1973)
- 123 TALJAARD, J.J.F., SHANLEY, B.C., DEPPE, W.M., JOUBERT, S.M.:
Porphyrin metabolism in experimental hepatic siderosis in
the rat II. Combined effect of iron overload and hexachloro-
benzene. Brit. J. Haematol. 23, 513, (1972)

- 124 TALJAARD, J.J.F., SHANLEY, B.C., DEPPE, W.M., JOUBERT, S.M.:
Porphyrin metabolism in experimental hepatic siderosis in
the rat III. Effect of oron overload and hexachlorobenzene
on liver haem biosynthesis. Brit. J. Haematol. 23, 587,
(1972)
- 125 TSCHUDY, D.P., BONKOWSKY, H.L.:
Experimental porphyria. Fed. Proc. 31, 147, (1972)
- 126 TURNER, J.C., GREEN, R.S.:
Effect of hexachlorobenzene on microsomal enzyme systems
Biochem. Pharmacol. 23, 2387, (1974)
- 127 VEITH, G.D., KUEHL, D.W., PUGLISI, F.A., GLASS, G.E.,
EATON, J.G.:
Residues of PCB's and DDT in Western Lake Superior eco-
system. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 5, 487, (1977)
- 128 VILLENEUVE, D.C.:
The effect of food restriction on the redistribution of
hexachlorobenzene in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol.
31, 313, 1975)
- 129 VILLENEUVE, D.C., PANOPIO, L.G., GRANT, D.R.:
Placental transfer of hexachlorobenzene in the rabbit
Environ. Physiol. Biochem. 4, 112, (1974)
- 130 VIOQUE, A., SAEZ, J.M.:
Contaminacion de la población de Andalucía por residuos
de insecticidas clorados. Grasas y Aceites 27, 179, (1976)
- 131 VOS, J.G., BOTTERWEG, P.F., STRIK, J.J.T-W.A., KOEMAN, J.H.:
Experimental studies with HCB in birds. TNO-Nieuws 27,
599, (1972)

- 132 VOS, J.G., BREEMAN, H.A., BENSCHOP, H.:
The occurrence of the fungicide HCB in wild birds and its
toxicological importance. A preliminary communication
- 133 WADA, O., YANO, Y., URATA, G., NAKAO, K.:
Behaviour of hepatic microsomal cytochromes after treat-
ment of mice with drugs known to disturb porphyrin meta-
bolism in liver. Biochem. Pharmacol. 17, 595, (1968)
- 134 WIRTH, W. HECHT, G., GLOXHUBER, C.:
Hexachlorbenzol, in Toxikologie-Fiebel, 236
Stuttgart, Georg Thieme Verlag, (1971)
- 135 ZEMAN, A.:
Occurrence of HCB in human serum. Naturwiss. 58, 276, (1971)
- 136 ZIMMERLI, B., MAREK, B.:
Entwicklung einer gaschromatographischen Bestimmungs- und
Bestätigungsmethode für Hexachlorbenzolrückstände in Fet-
ten und Ölen. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. 63,
273, (1972)

L e b e n s l a u f

Manfred Wick

- | | |
|-------------------|--|
| 15. November 1954 | Geburt in Burghausen/Obb. als Sohn des
Dipl.-Chemikers Manfred Wick und seiner
Ehefrau Camilla Wick, geb. Sahr |
| 1961 - 1965 | Besuch der kath. Knabenvolksschule in Burg-
hausen |
| 1965 - 1966 | Aventinus-Gymnasium in Burghausen |
| 1966 - 1974 | Gisela-Gymnasium in München |
| 22. Juni 1974 | Reifeprüfung am Gisela-Gymnasium in München |
| 1974 - 1980 | Studium der Medizin an der Ludwig-Maximili-
ans-Universität in München |
| 27. August 1976 | Ärztliche Vorprüfung |
| 26. August 1977 | 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| 21. August 1979 | 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| Oktober 1980 | 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |

